

**Zur Problematik der CO-Hb-Bestimmung  
in faulem Blut**

von  
**Joachim Lötterle**  
aus  
**Frankfurt am Main**

**1977**  
**—**



Digitized by the Internet Archive  
in 2026



Aus dem Institut für Rechtsmedizin  
der Universität Erlangen - Nürnberg  
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

---

# **Zur Problematik der CO-Hb-Bestimmung in faulem Blut**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
dem Fachbereich Medizin  
der Friedrich-Alexander-Universität  
Erlangen-Nürnberg



vorgelegt

von

**Joachim Lötterle**

aus

**Frankfurt am Main**

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin der  
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Juli 1977

Allen denen, die durch eine selbstlose Blutspende  
zum reibungslosen Ablauf der Arbeit beigetragen haben



## Inhaltsverzeichnis

|                                                             | Seite |
|-------------------------------------------------------------|-------|
| I. EINLEITUNG                                               | 6     |
| A) Allgemeiner Teil                                         | 6     |
| B) CO-Hb-Gehalt von Blut                                    | 7     |
| C) Methoden der CO-Hb-Bestimmung                            | 7     |
| 1. Unspezifische Methoden                                   | 8     |
| 2. Spezifische Methoden                                     | 9     |
| D) Allgemeines über die gaschromatographische CO-Bestimmung | 10    |
| E) Hb-Messung                                               | 11    |
| 1. Frische Blutproben                                       | 11    |
| 2. Gefaulte Blutproben                                      | 11    |
| F) Ziel der Arbeit                                          | 12    |
| II. BESCHREIBUNG DER METHODE DER CO-HB-BESTIMMUNG           |       |
| IN FRISCHEM BLUT NACH LAUTENBACH ET AL.                     | 13    |
| A) Geräte und Chemikalien                                   | 13    |
| 1. Geräte zur Messung                                       | 13    |
| 2. Geräte zur Eichung                                       | 14    |
| 3. Chemikalien                                              | 15    |
| B) Gaschromatographische CO-Bestimmung                      | 15    |
| 1. Blutgewinnung                                            | 15    |
| 2. Reagenzien zur CO-Freisetzung                            | 16    |
| 3. Probenansatz                                             | 16    |
| 4. Entnahme von Gasphase und Proben-einspritzung            | 17    |
| 5. Gaschromatographische Arbeitsbedingungen                 | 18    |
| 6. Eichen des Gaschromatographen mit CO                     | 18    |
| 7. Berechnung des CO-Hb-Gehalts aus der Peakfläche          | 21    |

|                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| C) Bestimmung des Hb-Gehalts mit der photometrischen Cyan-Met-Hb-Methode                                                          | 22 |
| 1. Prinzip der Methode                                                                                                            | 22 |
| 2. Probenansatz                                                                                                                   | 22 |
| 3. Standard                                                                                                                       | 22 |
| 4. Messung                                                                                                                        | 23 |
| D) Nachweisgrenze                                                                                                                 | 23 |
| III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN                                                                                                        | 24 |
| A) Versuche zur photometrischen Hb-Bestimmung                                                                                     | 24 |
| 1. Überprüfung der Zeit für die quantitative Umsetzung von CO-Hb zu Cyan-Met-Hb                                                   | 24 |
| 2. Änderung des Hb-Gehalts von Blut bei der CO-Sättigung                                                                          | 26 |
| 3. Diskussion                                                                                                                     | 31 |
| B) Atomabsorptionsspektralphotometrische Fe-Bestimmung von Vollblut zur Ermittlung des Hb-Gehalts                                 | 32 |
| 1. Arbeitsvorschrift                                                                                                              | 32 |
| a) Geräte und Chemikalien                                                                                                         | 32 |
| b) Herstellung einer Fe-Standardlösung                                                                                            | 32 |
| c) Probenansatz                                                                                                                   | 33 |
| d) Atomabsorptionsspektralphotometrische Arbeitsbedingungen                                                                       | 33 |
| e) Durchführung der Messung                                                                                                       | 33 |
| 2. Orientierende Untersuchungen                                                                                                   | 35 |
| a) Ermittlung des geeigneten Konzentrationsbereichs für die Fe-Bestimmung von Vollblut mittels Atomabsorptionsspektralphotometrie | 35 |
| b) Einstellung des Atomabsorptionsspektralphotometers                                                                             | 38 |
| 3. Diskussion                                                                                                                     | 43 |
| IV. UNTERSUCHUNG VON LÄNGERE ZEIT GELAGERTEN UND GEFAULTEN CO-HB-HALTIGEN BLUTPROBEN                                              | 45 |

|                                                                                                                     | Seite |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| A) Einleitung                                                                                                       | 45    |
| B) Material und Bedingungen der Aufbewahrung                                                                        | 45    |
| 1. Probenvorbereitung und Probenansatz                                                                              | 46    |
| 2. Erster Versuch                                                                                                   | 47    |
| 3. Zweiter Versuch                                                                                                  | 48    |
| C) Durchführung der Messung                                                                                         | 49    |
| 1. Technik des Pipettierens alter Blutproben                                                                        | 50    |
| D) Meßergebnisse                                                                                                    | 51    |
| 1. Erster Fäulnisversuch                                                                                            | 56    |
| 2. Zweiter Fäulnisversuch                                                                                           | 57    |
| a) Unterschiede zwischen der Hb-Messung<br>und der Hb-Bestimmung durch Fe-Messung                                   | 57    |
| b) Proben mit starker Abweichung vom Frisch-<br>blutwert                                                            | 61    |
| 3. Graphische Darstellung der Änderung des CO-<br>Hb-Gehalts aller gelagerter Blutproben                            | 62    |
| 4. Gasphasenuntersuchung während der Fäulnis                                                                        | 62    |
| E) Diskussion                                                                                                       | 65    |
| 1. Einleitung                                                                                                       | 65    |
| 2. Messung des Hb-Gehalts von faulem Blut                                                                           | 66    |
| 3. Einfluß der Aufbewahrungsart auf die<br>Änderung des CO-Hb-Gehalts von Blutproben                                | 69    |
| a) "Kühl und anaerob" und "kühl und aerob"<br>aufbewahrte Proben                                                    | 69    |
| b) "Warm und anaerob" aufbewahrte Proben                                                                            | 70    |
| c) "Warm und aerob" aufbewahrte Proben                                                                              | 71    |
| 4. Absolute Änderung des CO-Hb-Gehalts von Blut-<br>proben bei der Fäulnis; Eingrenzung eines<br>Vertrauensbereichs | 72    |
| 5. Ursachen der CO-Änderung während der Fäulnis                                                                     | 74    |
| 6. Ergebnisse von Fäulnisversuchen bei anderen<br>Autoren                                                           | 77    |
| 7. Übertragung der Versuchsergebnisse auf die<br>Verhältnisse bei Leichen                                           | 80    |
| V. ZUSAMMENFASSUNG                                                                                                  | 81    |
| VI. LITERATURVERZEICHNIS                                                                                            | 86    |

## I. EINLEITUNG

### A) Allgemeiner Teil

Die Kohlenmonoxidvergiftung ist dem Menschen seit Jahrtausenden bekannt; in der westlichen Kultur wird sie zum ersten Mal schriftlich bei HOMER erwähnt, der in der Ilias schreibt, daß HECTOR Feuer in die Schiffe der Achaier werfen wolle, um sie dann zu töten, wenn sie vom Rauch betäubt seien.

Obwohl sich der Mensch im Laufe der Zeit immer besser vor den Einwirkungen des CO zu schützen verstand, ist die CO-Intoxikation auch heute noch nach wie vor häufig; 1972 starben in der Bundesrepublik 840 Personen an einer CO-Vergiftung, die sich auf einen Unglücksfall zurückführen ließ; 169 Personen begingen Selbstmord unter Verwendung von Haushaltsgasen (Angaben des Statistischen Bundesamtes, zit. nach SCHWERD 1975).

Im allgemeinmedizinischen und arbeitsmedizinischen Bereich gewinnen die akute und die chronische CO-Vergiftung immer mehr an Interesse (wobei die Ansichten über das Krankheitsbild der chronischen CO-Intoxikation noch geteilt sind); die CO-Belastung des Menschen durch Autoabgase, Industriegase und das Rauchen muß mit exakten Methoden überwacht werden.

Im gerichtsmedizinischen Bereich haben unter anderen

BREITENECKER und HOLCZABEK (1967), HOLZER (1962), NAEVE und JANSSEN (1971), OSTERHAUS (1973), PATSCHEIDER (1966), SCHWERD (1975) und SPANN (1957) auf die Wichtigkeit der CO-Hb-Bestimmung bei unklaren Todesfällen hingewiesen.

Ein besonderes Problem stellt die Bestimmung des CO-Hb-Gehalts bei faulen Blutproben (SCHWERD et al. 1955, 1957, 1962; AINSWORTH et al. 1967; BLACKMORE 1970; DOMINGUEZ et al. 1964, HESSEL und MODGLIN 1967; MAEHLY 1962), bei Wasserleichen (DOMINGUEZ et al. 1964) und bei von Hitze- einwirkung veränderten Brandleichen (EKBOHM-LINDHOLM 1968) dar.

#### B) CO-Hb-Gehalt von Blut

Im Blut ist auch unter physiologischen Bedingungen eine geringe Menge von CO-Hb enthalten, da beim Hb-Abbau CO entsteht (SJÖSTRAND 1951, 1952). Bei starken Rauchern können bis zu 10 % CO-Hb auftreten, eine Konzentration, die schon als pathologisch anzusehen ist. Zu stärkeren Vergiftungserscheinungen (Kopfschmerz, Schwindel und Erbrechen) kommt es ab 20 - 30 % CO-Hb, bei Werten zwischen 55 % und 80 % CO-Hb tritt der Tod ein. Eine Sättigung des Blutes mit CO-Hb ( $\hat{=}$  100 % CO-Hb) in vivo kommt nicht vor.

#### C) Methoden der CO-Hb-Bestimmung im Blut

Es sind bislang über 100 verschiedene Verfahren, den

CO-Hb-Gehalt im Blut zu bestimmen, entwickelt worden. Klammert man die qualitativen und halbquantitativen Vorproben aus, so lassen sich die einzelnen Methoden auf einige prinzipiell unterschiedliche Verfahren reduzieren:

- |                                                                         |   |                        |
|-------------------------------------------------------------------------|---|------------------------|
| 1. Methoden, mit denen das CO-Hb-Molekül erfaßt wird:                   | } | unspezifische Methoden |
| a) spektralphotometrisch<br>b) durch Präzipitation (WOLFF u.a.)         |   |                        |
| 2. Methoden, bei denen das CO vom Hb abgetrennt und dann gemessen wird: | } | spezifische Methoden   |
| a) durch Reduktion von Edelmetallsalzen oder Jodpentoxid                |   |                        |
| b) gasometrisch (VAN SLYKE u.a.)                                        |   |                        |
| c) durch Ultrarotabsorptionsschreiber (URAS)                            |   |                        |
| d) gaschromatographisch                                                 |   |                        |

#### 1. Unspezifische Methoden

Bei den spektralphotometrischen Methoden, den Präzipitationsmethoden und den Reduktionsmethoden ist die Meßgenauigkeit der einzelnen Verfahren im Konzentrationsbereich von 0 % bis 100 % CO-Hb nicht überall gleichmäßig gut; einige Methoden ergeben im niedrigen Konzentrationsbereich verlässliche Werte, andere nur im hohen.

Die Meßgenauigkeit der spektralphotometrischen Methoden und der Reduktionsmethoden kann durch Hb-Abbauprodukte bei älteren oder gefaulten Blutproben wesentlich beeinträchtigt werden; bakterielle Abbauprodukte in Blutpro-

ben und Erhitzung verursachen erhebliche Fehler bei den Präzipitationsmethoden.

## 2. Spezifische Methoden

Bei allen spezifischen Methoden der CO-Hb-Bestimmung wird das CO vom Hb abgetrennt und dann gemessen. Zur Berechnung des CO-Hb-Gehalts benötigt man den Hb-Gehalt der Blutprobe als Bezugsgröße. Bei frischen Blutproben ist die allgemein übliche photometrische Hb-Messung sehr verlässlich, bei faulem Blut ist sie jedoch nicht mehr möglich, da das Hb in solchen Blutproben teilweise abgebaut ist. Bei frischen Blutproben ist die CO-Hb-Messung mit den spezifischen Methoden im hohen und niedrigen Konzentrationsbereich mit großer Genauigkeit möglich. Bei gefaulten Blutproben können die spezifischen Methoden der CO-Hb-Bestimmung lediglich deshalb bislang nicht angewendet werden, weil man den Hb-Gehalt solcher Blutproben nicht ermitteln kann. Sonst könnte man den CO-Hb-Gehalt der gefaulten Proben mit derselben Genauigkeit wie den der frischen Blutproben bestimmen. Auf S.11 wird auf dieses Problem eingegangen und eine Lösung vorgeschlagen.

Die auf S. 8 dargestellten spezifischen Methoden der CO-Hb-Bestimmung sind nicht alle gleichermaßen praktikabel. Die gasometrischen Verfahren haben heute wegen des großen zeitlichen und apparativen Aufwands an Bedeutung

stark verloren. Die gaschromatographischen Methoden dagegen werden in den letzten Jahren zunehmend häufiger angewendet.

D) Allgemeines über die gaschromatographische CO-Bestimmung

1955 führte CURRY die erste toxikologische Untersuchung mit Hilfe der Gaschromatographie durch. 1959 wies DOMINGUEZ als Erster CO aus Blut und Geweben gaschromatographisch nach.

Bislang in der Literatur angegebene Methoden der gaschromatographischen CO-Bestimmung stammen von AINSWORTH et al. (1967), AYRES et al. (1966), BLACKMORE (1970), CARLSON (1964), COLLISON et al. (1968), DAHMS und HORVATH (1974), DOMINGUEZ et al. (1964), DUBOWSKI und LUKE (1973), GRIEDER und BUSER (1971), HEYNDRIX et al. (1970), HESSEL und MODGLIN (1967), IFFLAND und STICHT (1972), KAKUTANI et al. (1968), KLIMISCH et al. (1974), MC CREDIE et al. (1967), MUNDT et al. (1974), PURVES (1969), RODKEY (1970), SOTNIKOV (1971) und SUNDSTRÖM (1972). Die Autoren beschrieben dabei recht unterschiedliche Methoden der CO-Festsetzung und der-Eingabe in den Gaschromatographen.

LAUTENBACH et al. entwickelten eine besonders einfache und genaue Methode der CO-Hb-Bestimmung im frischen Blut, die sowohl für Messungen im physiologischen als auch im pathologischen Konzentrationsbereich geeignet

ist. Nach dieser Methode führten wir die CO-Bestimmungen in der vorliegenden Arbeit durch.

#### E) Hb-Messung

Bei allen spezifischen Methoden der CO-Hb-Bestimmung muß eine Messung des Hb-Gehalts, der ja die Bezugsgröße zum CO darstellt, durchgeführt werden.

##### 1. Frische Blutproben

Bei frischen Blutproben kann die photometrische Hb-Messung (Hb durch Kaliumferricyanid und Kaliumcyanid in Cyan-Met-Hb übergeführt und bei 540 nm gemessen) problemlos durchgeführt werden.

##### 2. Gefaulte Blutproben

Alte und faule Blutproben enthalten fast immer Hb-Abbauprodukte, die die photometrische Messung beeinflussen, wodurch dann falsche Hb-Werte ermittelt werden. Diese Hb-Abbauprodukte verbinden sich nicht mehr mit CO, so daß der Hb-Gehalt einer faulen Blutprobe auch nicht mehr über die CO-Bindungskapazität bestimmt werden kann (AINSWORTH et al. 1967, BLACKMORE 1970).

Ein Bestandteil des Hb-Moleküls allerdings, das Eisen, unterliegt während der Fäulnis von Blut keiner Veränderung. Mit Hilfe einer Fe-Bestimmung von Vollblut kann man auch bei veränderten Blutproben auf den ursprünglichen Hb-Gehalt rückschließen. In frischem Blut ist

das Fe praktisch vollständig an Hb gebunden und steht in einem konstanten stöchiometrischen Verhältnis zu Hb: 4 Mol Fe sind in 1 Mol Hb enthalten.

1972 bestimmten IFFLAND und STICHT den Hb-Gehalt von Blutproben durch Fe-Messung; sie führten eine nasse Veraschung der Blutproben durch, versetzten anschließend die Fe-Lösung mit o-Phenanthrolin und bestimmten dann photometrisch die Absorption.

1970 bestimmte BLACKMORE das Fe im Blut mittels Atomabsorptionsspektralphotometrie, fand dabei allerdings eine sehr starke Streuung der Meßwerte.

Die Fe-Bestimmung durch nasse Veraschung ist eine recht aufwendige Methode und deshalb für Reihenuntersuchungen kaum geeignet. Die atomabsorptionsspektralphotometrische Fe-Bestimmung dagegen ist einfach und schnell durchzuführen, sodaß in der vorliegenden Arbeit versucht wurde, diese Methode zu verbessern und für den Routinebetrieb anwendbar zu machen.

#### F) Ziel der Arbeit

Die vorliegende Arbeit ist das Resultat der Bemühungen, die von LAUTENBACH et al. empfohlene Methode der gaschromatographischen CO-Hb-Bestimmung in frischem Blut zu überprüfen und für die CO-Hb-Messung in gefaultem Blut anwendbar zu machen. Die Methode sollte für Messungen im physiologischen wie im pathologischen CO-Hb-Bereich

geeignet sein.

Die Methode der Fe-Bestimmung im Vollblut zur Ermittlung des Hb-Gehalts wurde vom Autor entwickelt, durchgeführt und mit der photometrischen Hb-Messung verglichen.

Mit der Methode der CO-Hb-Bestimmung in faulem Blut wurden vom Autor dann Messungen an unter verschiedenartigen Bedingungen gefaulten, CO-Hb-haltigen Blutproben vorgenommen, um Änderungen des CO-Hb-Gehalts während des Fäulnisvorgangs zu erfassen.

## II. BESCHREIBUNG DER METHODE DER CO-HB-BESTIMMUNG IN FRI- SHEM BLUT NACH LAUTENBACH ET AL.

### A) Geräte und Chemikalien

#### 1. Geräte zur Messung

G  $\hat{=}$  gaschromatographische CO-Messung

P  $\hat{=}$  photometrische Hb-Messung

G Gaschromatograph mit Flammenionisationsdetektor und 2,5-mV-Schreiber und Speicherintegrator

G Heizschrank, auf 60° C einstellbar

G Analysenwaage, Wägebereich 0,01 g - 100 g

G 25-ml-Serumfläschchen mit Gummistopfen und Aluminiumbördeln, dazu passende Verschlusszange

- G 500- $\mu$ l-Hamiltonspritze, gasdicht, mit aufgesetztem Absperrventil
- G 500- $\mu$ l-Spritze
- G 100- und 200-ml-Meßkolben
- G 0,5-ml-Meßpipetten, 5-ml-Meßpipette
- G 5- und 10-ml-Vollpipetten
- P Spektralphotometer
- P 10-mm-Küvetten
- P 0,02-ml-Strichpipetten (Hb-Pipetten)
- P 5-ml-Vollpipetten
- P 1000-ml-Meßkolben
- G P PVC-Röhrchen mit Kappe, 12 ml Inhalt
- G P Einmalspritzen und -kanülen
- G P Nylonsieb zur Homogenisierung koagulierter Blutproben (Maschenweite 33  $\mu$ m), Filtertrichter, Glasstab

## 2. Geräte zur Eichung

Zu den ebengenannten Geräten braucht man zur Eichung des Gaschromatographen folgende Geräte:

- G Flowmeter
- G Kolben zur CO-Sättigung nach WEHRLI
- G Gaswaschflasche
- G Erd- oder Flaschengasanschluß
- G Feinregulierventil für CO-Flaschen

### 3. Chemikalien

Alle Chemikalien sind von analytischem Reinheitsgrad.

G P Triton X 100

G P Liquemin 5000 E/5 ml

G Kaliumferricyanid

G Natriumdithionit

G Eisessig

G Natriumacetat

G Stickstoff

G Wasserstoff

G Kohlenmonoxid

P Cyanhämglobin-Reagenz ASID

P Cyanhämglobin-Standardlösung ASID

## B) Gaschromatographische CO-Bestimmung

### 1. Blutgewinnung

Beim Lebenden erfolgt die Blutabnahme aus einer Unterarmvene. Zur Gerinnungshemmung wird in die Spritze vorher Liquemin (200 E/10 ml Blut) aufgegeben. Leichenblut wird aus der Femoralvene ohne Zusatz gewonnen. Zeigt das Blut Gerinnselbildung, wird es homogenisiert, indem man es mit einem Glasstab durch ein Nygonsieb preßt, welches wie ein Filterpapier in einen Filtertrichter eingelegt worden ist. Auf diese Weise lassen sich einige ml Blut in weniger als einer Minute homogenisieren.

Die Aufbewahrung von CO-haltigem Blut hat unter Luftabschluß zu erfolgen; bei der Analyse des Blutes ist streng darauf zu achten, daß das Blut nur möglichst kurze Zeit offen an der Luft steht.

## 2. Reagenzien zur CO-Freisetzung

Ein Reaktionsgemisch, welches dazu dient, das CO vom Hb abzutrennen, wird folgendermaßen hergestellt:

Reaktionslösung: 32 g Kaliumferricyanid ad 100 ml  $H_2O$ .

Die Reaktionslösung ist täglich frisch anzusetzen.

Puffer (pH 5,05): 14,25 ml Eisessig und 61,2 g Natriumacetat ad 200 ml  $H_2O$ .

Der Puffer hält sich 3 Monate.

Eine Mischung von 3 Teilen Reaktionslösung und 1 Teil Puffer ergibt das Reaktionsgemisch.

## 3. Probenansatz

In ein Serumfläschchen von etwa 25 ml Inhalt (die bei unseren Versuchen verwendeten Fläschchen hatten einen Inhalt von 26,26 ml  $\pm$  0,45 ml) wird ein Tropfen Triton X 100 so hineingegeben, daß der zähflüssige Tropfen allmählich die Fläschchenwand hinunterläuft. Nun pipettiert man 0,5 ml Blut auf den Boden des Serumfläschchens und verschließt es sofort mit einem Gummistopfen. Mit einer Zange bringt man über dem Gummistöpsel und

dem Hals des Serumfläschchens eine Aluminiumbördelung an, sodaß der Gummistopfen luftdicht aufsitzt. Man wartet, bis der Tropfen Triton X 100 auf den Boden des Serumfläschchens geflossen ist und das Blut vollständig hämolysiert hat. Nun injiziert man 0,5 ml Reaktionsgemisch in das Serumfläschchen. Reaktionsgemisch und Blut werden durch vorsichtiges Schütteln vermischt, wobei darauf geachtet wird, daß sich das Blut nicht an der Wand des Serumfläschchens anlegt.

Daraufhin wird das Serumfläschchen für 15 min in einen Heizschrank bei 60° C gegeben. Nach dem Erhitzen wird das Serumfläschchen etwa eine Stunde bei Raumtemperatur abgekühlt, ehe man die Gasphase auf CO untersucht.

#### 4. Entnahme von Gasphase und Probeneinspritzung

Mit einer gasdichten 500- $\mu$ l-Spritze von Hamilton mit aufgesetztem Absperrventil (GTS-Spritzenventil von Hamilton) und einer 0,7 mm dicken Kanüle aspiriert man 0,5 ml Gasphase aus dem Serumfläschchen, verschließt das Absperrventil und zieht die Kanüle mit der Spritze aus dem Serumfläschchen heraus. Nun geht man mit der Kanüle durch das Gummiseptum in den Einspritzblock des Gaschromatographen ein, öffnet das Absperrventil und injiziert zügig das Gasgemisch.

### 5. Gaschromatographische Arbeitsbedingungen

Es wurde ein Gaschromatograph der Firma Perkin Elmer, Modell F 900 verwendet. Bei dem Gerät wurde zwischen Trennsäule und Detektor in einem separaten Heizblock (Manifold) eine auf  $300^{\circ}\text{C}$  aufheizbare Hydriersäule geschaltet, in welcher das  $\text{CO}$  zu  $\text{CH}_4$  reduziert wurde. Der Einspritzblock war auf  $120^{\circ}\text{C}$  aufgeheizt. Die Trennung des Gasgemischs erfolgte bei einer isothermen Ofentemperatur von  $60^{\circ}\text{C}$  an einer 2-m-Molekularsiebsäule ( $5\text{ \AA}$ ) im Stickstoffstrom von  $35\text{ ml/min}$ .

Die Peakhöhe wurde mit einem 2,5-mV-Kompensations-schreiber registriert. Die quantitative Auswertung des  $\text{CO}$ -Signals erfolgte mittels eines Speicherintegrators SIP 1 durch Peakflächenberechnung. Die Retentionszeit für  $\text{CO}$  betrug ca.  $2,9\text{ min}$ .

### 6. Eichen des Gaschromatographen mit $\text{CO}$

Vorangestellt wird die Beschreibung der Methode, mit der wir das Blut sättigten.

Zwischen 5 und 15 ml Blut werden in einen Kolben zur  $\text{CO}$ -Sättigung nach WEHRLI (Abb.1) gefüllt.



Abb. 1

Kolben zur CO-Sättigung nach WEHRLI

Man schließt den zuführenden Stutzen des Kolbens an eine Gasflasche mit reinem CO an; der abführende Stutzen leitet das Gas in eine Gaswaschflasche, die zu etwa  $1/3$  mit Wasser gefüllt ist. Das CO passiert den Kolben, die Gaswaschflasche und wird dann in strömendes Erdgas eingeleitet, welches im Bunsenbrenner verbrannt wird. Die Gaswaschflasche, die dem Kolben nach WEHRLI nachgeschaltet ist, dient zur Überwachung des Gasstroms, weil das Durchströmen des Blutes im WEHRLI'schen Kolben nur schlecht beobachtet werden kann. Außerdem verhindert sie das Eindringen von Erdgas in den Kolben.

Wir sättigten im allgemeinen Poolblut. Vor der Sättigung wurde das Blut mit einer Spatelspitze Natriumdititionit versetzt, um das stets in geringen Mengen vor-

handene Met-Hb zu Hb zu reduzieren, weil sich Met-Hb nicht mit CO verbindet und somit nur eine unvollständige Sättigung zustande gekommen wäre.

Wir durchströmten das Blut mit einer Durchflußrate von ca. 150 ml/min für 15 min mit reinem CO, anschließend 15 min lang mit Helium bei gleicher Durchflußrate, um physikalisch gelöstes CO zu entfernen.

Bei der Eichung darf davon ausgegangen werden, daß zwischen eingespritzter CO-Menge und CO-Signal des Gaschromatographen ein linearer Zusammenhang besteht. Trotzdem sollte man vorher durch Mischen von CO-gesättigtem Blut mit nicht behandeltem Blut derselben Probe eine CO-Hb-Verdünnungsreihe aufstellen und messen, um die Proportionalität zwischen CO-Hb-Gehalt und CO-Signal des Gaschromatographen zu überprüfen. Falls diese in dem für spätere Messungen vorgesehenen Konzentrationsbereich gegeben ist, kann man die Eichung des Gaschromatographen vornehmen.

Dazu wird von verschiedenen frischen CO-gesättigten Blutproben der CO-Gehalt gaschromatographisch und der Hb-Gehalt photometrisch (s.S. 22) gemessen. Von allen Proben wird der Quotient  $\frac{\text{Peakfläche}}{\text{Hb - Gehalt}}$  errechnet, dann wird der Mittelwert aller Quotienten gebildet; er sei  $\frac{1}{K}$  ..

Dieser Quotient ist für das verwendete Meßsystem (Gaschromatograph, Detektor) und die Meßbedingungen charak-

teristisch und stellt eine Konstante dar, mit welcher der CO-Hb-Gehalt einer Blutprobe aus der gemessenen Peakfläche errechnet werden kann.

# 7. Berechnung des CO-Hb-Gehalts aus der Peakfläche

Bei einer Blutprobe mit bekanntem Hb und unbekanntem CO-Hb-Gehalt berechnet sich der Sättigungsgrad  $\frac{\text{CO-Hb \%}}{100 \% \text{ CO-Hb}}$  wie folgt ( Der Quotient  $\frac{1}{K}$  ist der Mittelwert des Quotienten  $\frac{\text{Peakfläche}}{\text{Hb-Gehalt}}$  aller Eichproben (s.S. 20), er soll deshalb zunächst als  $\left(\frac{\text{Peakfläche}}{\text{Hb-Gehalt}}\right)_{\text{Eichproben}}$  bezeichnet werden):

$$\begin{aligned} \frac{\text{CO-Hb \%}}{100 \% \text{ CO-Hb}} &= \frac{\left(\frac{\text{Peakfläche}}{\text{Hb-Gehalt}}\right)_{\text{Probe}}}{\left(\frac{\text{Peakfläche}}{\text{Hb-Gehalt}}\right)_{\text{Eichproben}}} = \\ &= K \left(\frac{\text{Peakfläche}}{\text{Hb-Gehalt}}\right)_{\text{Probe}} \end{aligned}$$

Ausgedrückt in % CO-Hb:

$$\text{CO-Hb \%} = \frac{K}{100} \frac{\text{Peakfläche}}{\text{Hb-Gehalt}}$$

Die Größe der Konstante  $\frac{K}{100}$  hängt vom verwendeten Gaschromatographen ab; in der hier beschriebenen Versuchsanordnung war sie  $5,21 \times 10^{-3}$ , wobei die Peakfläche in  $\text{mm}^2$  und der Hb-Gehalt in g/100 ml anzugeben sind.

C) Bestimmung des Hb-Gehalts mit der photometrischen  
Cyan-Met-Hb-Methode

1. Prinzip der Methode

Die Hb-Bestimmung erfolgt mit dem Reagenz der Firma ASID ("Cyanhämglobinreagenz" nach DRABKIN). Das gebrauchsfertige Reagenz wird hergestellt, indem der Inhalt eines Fläschchens der konfektionierten Trockensubstanz mit aqua dest. in einen 1000-ml-Meßkolben gespült und dann bis zur Marke aufgefüllt wird.

Das Cyanhämglobinreagenz enthält:

|                                  |       |        |
|----------------------------------|-------|--------|
| Kaliumhexacyanoferrat (III) p.a. | 0,607 | mmol/l |
| Kaliumcyanid p.a.                | 0,767 | mmol/l |
| Natriumhydrogencarbonat p.a.     | 11,9  | mmol/l |

Das Kaliumferricyanid oxidiert Hämoglobin zu Hämglobin, welches mit Kaliumcyanid einen stabilen Hämglobincyanidkomplex (Cyan-Met-Hb) bildet.

2. Probenansatz

In ein Reagenzglas pipettiert man zu 5 ml Cyanhämglobinreagenz 0,02 ml Blut mittels einer Hb-Pipette. Das Reagenzglas wird gut geschüttelt. Nach 20 min kann die Messung erfolgen.

3. Standard

Als Standard wird eine in 5-ml-Ampullen abgefüllte und auf 20 g Hb/100 ml eingestellte Cyanhämglobin-Stan-

dardlösung der Firma ASID verwendet, die direkt photometrisch gemessen werden kann.

#### 4. Messung

Die Messung erfolgte mit einem Doppelstrahlphotometer der Firma Shimadzu, Typ UV - 200, bei einer Wellenlänge von 540 nm. Es wurden Probe bzw. Standard gegen Cyanhämglobinreagenz gemessen. Bei jeder Meßreihe bestimmten wir einen Standard mit.

Für die Meßergebnisse gilt das LAMBERT-BEER'sche Gesetz; die Berechnung des Hb-Gehalts der Probe erfolgte nach der Gleichung

$$\text{Hb}_{\text{Probe}} = \text{Extinktion}_{\text{Probe}} \frac{\text{Hb}_{\text{Standard}}}{\text{Extinktion}_{\text{Standard}}}$$

#### D) Nachweisgrenze

Die untere Nachweisgrenze des eben beschriebenen Verfahrens zur CO-Hb-Bestimmung in frischem Blut wird von LAUTENBACH et al. mit 0,1 % CO-Hb angegeben.

### III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

#### A) Versuche zur photometrischen Hb-Bestimmung

##### 1. Überprüfung der Zeit für die quantitative Umsetzung von CO-Hb zu Cyan-Met-Hb

Bei ersten Versuchen war aufgefallen, daß bei CO-gesättigtem Blut ein höherer Hb-Gehalt gemessen wurde als bei nicht behandeltem Blut der gleichen Probe, wenn die Bestimmung 20 min nach Probenansatz - wie in der Arbeitsvorschrift zur Hb-Bestimmung angegeben - erfolgte.

Um dies zu klären, versetzten wir eine nach der Methode auf S.18 mit CO gesättigte Blutprobe mit Cyanhämioglobinreagenz und bestimmten sofort nach dem Ansatz während 200 min photometrisch die Extinktionsänderung gegen den Leerwert. Mittels Schreiber wurden fünf Messungen bei derselben Blutprobe kontinuierlich registriert, die in Abb. 2 angegebene Kurve stellt den Mittelwert der Messungen dar.

Man erkennt deutlich, daß erst nach ca. 160 min keine weitere Extinktionsänderung mehr erfolgt (Messung bei  $\lambda = 540 \text{ nm}$ ). Zur weiteren Sicherung dieses Befundes wurden bei einer CO-gesättigten Blutprobe und bei einer Probe mit physiologischem CO-Hb-Gehalt die Absorptionsspektren zu verschiedenen Zeiten nach Cyanhämioglobin-Reagenz-Zugabe aufgezeichnet.

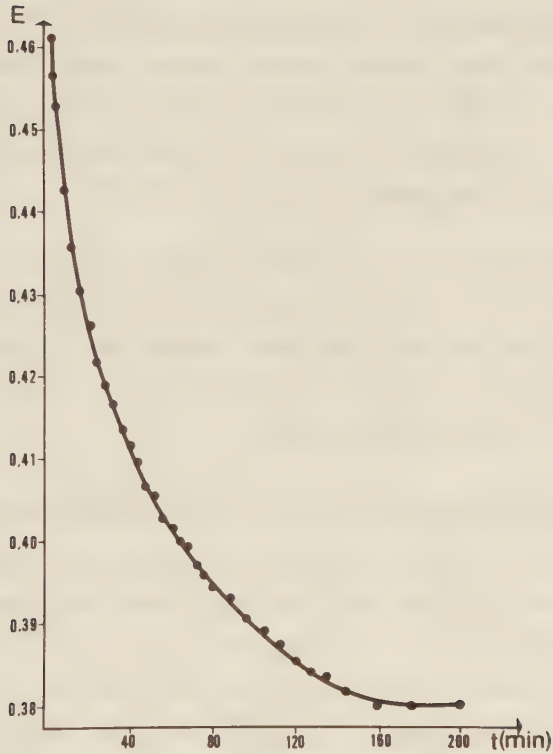


Abb. 2

Extinktionsänderung einer CO-gesättigten Blutprobe in Abhängigkeit von der Zeit, nachdem die Probe 251-fach mit Cyanhämoglobin-Reagenz ASID verdünnt wurde. Die Messung erfolgte bei  $\lambda = 540 \text{ nm}$ .

Bei der Blutprobe mit physiologischem CO-Hb-Gehalt ist 20 min nach Zugabe des Cyanhämiglobin-Reagenz eine vollständige Umwandlung zu Cyan-Met-Hb eingetreten, bei der CO-gesättigten Probe braucht dieser Vorgang etwa 3 Stunden. In den Abb. 3 und 4 sind die Absorptionsspektren aufgezeichnet, die gestrichelte Linie in den Abbildungen ist das Absorptionsspektrum von Cyan-Met-Hb.

Wir führten auch Versuche durch, um herauszufinden, ob die Umsetzung von CO-Hb zu Cyan-Met-Hb bei höheren Temperaturen schneller verläuft und fanden heraus, daß die Reaktionsgeschwindigkeit bei Temperaturen bis 50° C genauso groß wie die bei Zimmertemperatur ist.

## 2. Änderung des Hb-Gehalts von Blut bei der CO-Sättigung

Beim Vergleich des Hb-Gehalts von CO-gesättigten Blutproben mit unbehandeltem Blut desselben Pools fiel auf, daß auch bei Einhaltung einer Wartezeit von drei Stunden zwischen Probenansatz und Messung der photometrische Hb-Wert der gesättigten Probe höher lag als der der unbehandelten Probe. Um dies zu klären, bestimmten wir bei zwei verschiedenen Poolblutproben photometrisch den genauen Hb-Gehalt durch Serienmessung. Dann wurden die beiden Blutpools mit CO gesättigt und der Hb-Gehalt von jedem der beiden Pools erneut durch Serienmessung bestimmt.

Dann prüften wir mit dem zweiseitigen t-Test (STUDENT-

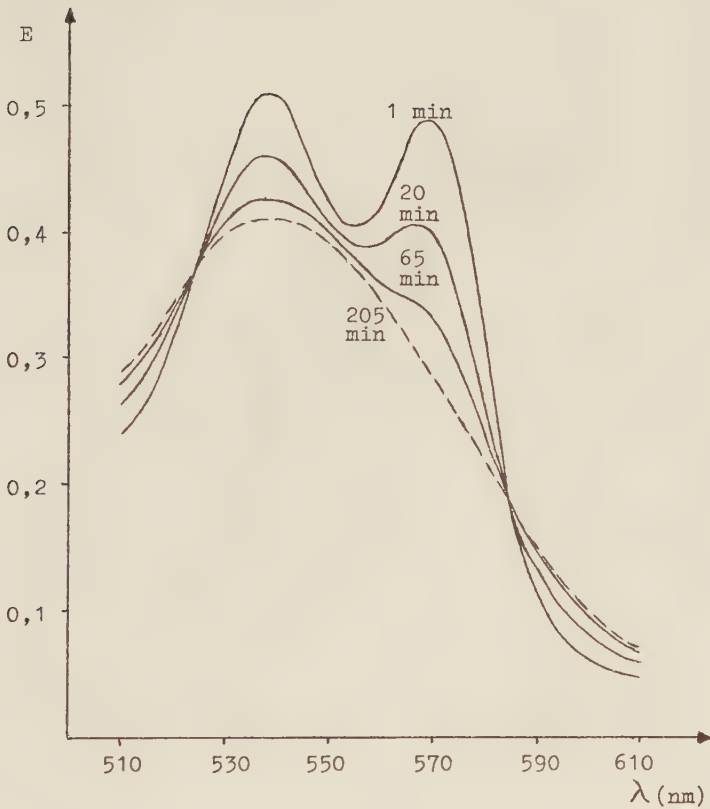


Abb. 3

Änderung des Absorptionsspektrums einer Blutprobe mit 100 % CO-Hb in Abhängigkeit von der Zeit, nachdem die Probe 251-fach mit Cyanhämglobin-Reagenz verdünnt wurde. Die gestrichelte Linie ist das Absorptionsspektrum für Cyan-Met-Hb.

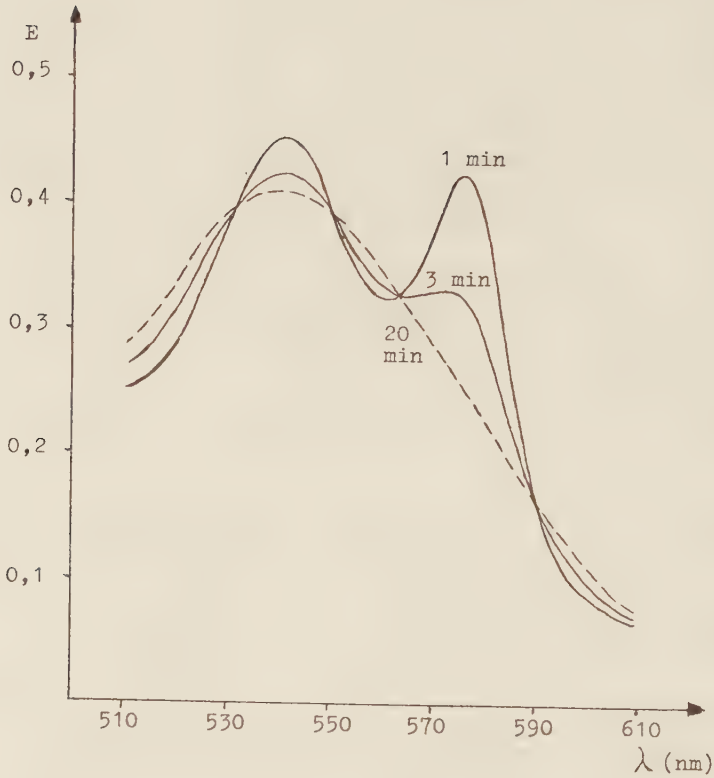


Abb. 4

Änderung des Absorptionsspektrums einer Blutprobe mit physiologischem CO-Hb-Gehalt in Abhängigkeit von der Zeit, nachdem die Probe 251-fach mit Cyanhämitglobin-Reagenz ASID verdünnt wurde. Die gestrichelte Linie ist das Absorptionsspektrum für Cyan-Met-Hb.

Verteilung) die Mittelwerte des Hb-Gehalts der CO-gesättigten und der nicht behandelten Proben auf Ungleichheit. Der Test konnte angewendet werden, da die Grundgesamtheiten normalverteilt und die Varianzen gleich waren. Dies war vorher anhand des F-Tests überprüft worden. Die ungleichen Stichprobenumfänge wurden berücksichtigt. Wir fanden, daß bei dem 1. Poolblut mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha < 1\%$  und bei dem 2. Poolblut mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha < 2\%$  die Mittelwerte der Hb-Konzentrationen der CO-gesättigten Blutpools höher lagen als die der unbehandelten Blutpools. Die näheren statistischen Parameter sind in Tabelle 1 angegeben.

Da die Differenz im Hb-Gehalt möglicherweise auf die Eindickung des Blutes durch Wasserentzug während des Durchströmens mit Gas zurückzuführen ist, sättigten wir einen Teil einer 3. Poolblutprobe mit CO, während der andere Teil derselben Probe unter den gleichen Bedingungen mit Helium durchströmt wurde. Bei beiden Blutproben wurden Reihenummessungen zur Ermittlung des genauen Hb-Gehalts durchgeführt. Es erfolgten dieselben statistischen Berechnungen wie bei dem 1. und 2. Poolblut. Der Mittelwert der Hb-Konzentration der CO-durchströmten Blutprobe unterschied sich nicht signifikant von dem der He-durchströmten Blutprobe; die statistischen Parameter sind in Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1: Versuchsergebnisse zum Kapitel "Änderung des Hb-Gehalts von Blut bei der CO-Sättigung"

1. Poolblut

|      | n  | $\bar{x}_{\text{Hb}}$ | $s^2$  | FG | $\hat{t}$ | $\alpha$             |
|------|----|-----------------------|--------|----|-----------|----------------------|
| CO   | 16 | 13,37                 | 0,0772 | 38 | 3,8243    | 1% < $\alpha$ < 0,5% |
| n.b. | 24 | 12,98                 | 0,1151 |    |           |                      |

2. Poolblut

|      | n  | $\bar{x}_{\text{Hb}}$ | $s^2$  | FG | $\hat{t}$ | $\alpha$            |
|------|----|-----------------------|--------|----|-----------|---------------------|
| CO   | 39 | 14,05                 | 0,1330 | 61 | 3,2644    | 2% < $\alpha$ < 1 % |
| n.b. | 24 | 13,74                 | 0,1372 |    |           |                     |

3. Poolblut

|    | n  | $\bar{x}_{\text{Hb}}$ | $s^2$  | FG | $\hat{t}$ | $\alpha$             |
|----|----|-----------------------|--------|----|-----------|----------------------|
| CO | 15 | 14,73                 | 0,0614 | 28 | 1,1346    | 50% < $\alpha$ < 20% |
| He | 15 | 14,62                 | 0,0615 |    |           |                      |

Legende

- CO : CO-gesättigtes Blut, Messung 3 Stunden nach Proben-  
ansatz
- n.b. : nicht behandeltes Blut
- He : Helium-durchströmtes Blut
- n : Stichprobenumfang
- $\bar{x}_{\text{Hb}}$  : Mittelwert des Hb-Gehalts der Stichprobe
- $s^2$  : Varianz der Stichprobe
- FG : Zahl der Freiheitsgrade
- $\hat{t}$  : Prüfquotient
- $\alpha$  : Irrtumswahrscheinlichkeit, daß die beiden Stich-  
proben ungleich sind, für den 2-seitigen t-Test

### 3. Diskussion

Die Umwandlung von CO-Hb zu Cyan-Met-Hb läuft, wie die Versuche gezeigt haben, weitaus langsamer ab als die Umwandlung von O<sub>2</sub>-Hb zu Cyan-Met-Hb. Bei den gegebenen Verhältnissen stellt sich eine vollständige Cyan-Met-Hb-Bildung von CO-gesättigtem Blut erst nach 3 Stunden ein. BLACKMORE (1970), RODKEY (1967) und TAYLOR et al. (1965) kamen zu ähnlichen Ergebnissen, wobei allerdings die Dauer bis zur vollständigen Umsetzung des CO-Hb von den einzelnen Autoren unterschiedlich lang angegeben wird. TAYLOR et al. zeigten, daß bei Erhöhung des Kaliumferricyanidgehalts der Reaktionslösung die Umwandlung des CO-Hb schneller erfolgt; RODKEY konnte dieses Ergebnis nicht bestätigen.

Beim Sättigen von Blut mit CO nach der auf S. 22 angegebenen Methode kommt es, wie die Versuche zeigten, durch Wasserentzug zu einer Eindickung des Blutes. Dies ist die Ursache für die Erhöhung des Hb-Gehalts gegenüber den nicht behandelten Proben.

B) Atomabsorptionsspektralphotometrische Fe-Bestimmung von Vollblut zur Ermittlung des Hb-Gehalts

1. Arbeitsvorschrift

a) Geräte und Chemikalien

Geräte

Atomabsorptionsspektralphotometer mit Fe-Hohlkathodenlampe

Spannungskonstanthalter

0,1-ml-Pipetten (Blutzuckerpipetten)

5-ml-Vollpipetten

100-ml-Meßkolben, 1000-ml-Meßkolben

PVC-Röhrchen mit Kappe, 12 ml Inhalt

Nylonsieb zur Homogenisierung koagulierter Blutproben (Maschenweite  $33\text{ }\mu\text{m}$ ),

Filtertrichter, Glasstab

Chemikalien

Fe-Standard-Lösung (Titrisol<sup>R</sup>, Firma Merck)

Synthetische Luft

Acetylen

b) Herstellung einer Fe-Standardlösung

Zunächst wird eine Fe-Stammlösung angesetzt, indem man in einen 1000-ml-Meßkolben mit aqua dest. eine Fe-Lösung (Titrisol<sup>R</sup>, Firma Merck) überspült. Diese ist so bemessen, daß die Fe-Konzentration im Kolben dann 1 mg Fe/1 ml H<sub>2</sub>O beträgt. Von dieser Lösung pipettiert man 1 ml in einen 100-ml-Meßkolben und füllt mit aqua dest. auf. Die so hergestellte Standardlösung hat eine Fe-Konzentration von  $10\text{ }\mu\text{g Fe/1ml H}_2\text{O}$ .

c) Probenansatz

In ein Reagenzglas pipettiert man zu 5 ml wäßriger 0,5 %iger Triton-X-100-Lösung 0,1 ml Blut mittels einer Blutzuckerpipette. Die Pipette wird anschließend mehrmals mit der Triton-X-100-Lösung bis knapp oberhalb der Marke aufgezogen und ausgespült. Das Reagenzglas wird leicht geschüttelt. Sobald das Blut gleichmäßig verteilt und vollständig hämolysiert ist, kann die Probe gemessen werden.

d) Atomabsorptionsspektralphotometrische Arbeitsbedingungen

Wir verwendeten ein Atomabsorptionsspektralphotometer der Firma Perkin Elmer, Modell 403. Um eine gleichmäßige Spannung zu erreichen, schalteten wir dem Gerät einen Spannungskonstanthalter vor. Die Lichtquelle war eine Fe-Hohlkathodenlampe der Firma Perkin Elmer, Stromstärke 30 mA. Es wurde bei einer Wellenlänge von 248,3 nm gemessen, die Spaltbreite betrug 0,3 mm. Als Brenngas verwendeten wir Acetylen, als Oxydant Luft. Wir benutzten einen 10 cm breiten Standard-Brennkopf. Der Probenansaugeschlauch hatte einen Innendurchmesser von 0,6 mm und war 15 cm lang.

e) Durchführung der Messung

Es wird eine Eisenkonzentrationsmessung vorgenommen, wobei zunächst eine Fe-Standard von 10 µg Fe/1 ml

H<sub>2</sub>O auf ein Fe-Signal von 15,8 abgeglichen wird. Die Blutlösung wird nie länger als 20 sec angesaugt, da sonst im Ansaug- und Zerstäubersystem Verschmutzungseffekte auftreten, die die Messung beeinflussen. Nach jeder Messung einer Blutlösung saugt man so lange destilliertes Wasser an, bis das Fe-Signal wieder den Wert 0 anzeigt. Da das Eisen-Signal manchmal etwas driftet, bestimmt man es nach jeder Blutprobenmessung neu und justiert das Signal, falls nötig, nach.

Für eine Reihenmessung von Blutproben verwendet man am günstigsten nachstehende Meßfolge:

- aqua dest. - Fe-Standard - Probe 1 -
- aqua dest. - Fe-Standard - Probe 2 - usw.

Wenn man das digital angezeigte Signal des Atomabsorptionsspektralphotometers so abgleicht, daß bei Messung des Standards der Wert 158 angezeigt wird, dann vor die letzte Ziffer der Digitalanzeige ein Komma setzt, sodaß der Wert 15,8 angegeben wird, dann ist das Gerät so eingestellt, daß es den Hb-Gehalt einer Blutprobe in g/100 ml angibt (siehe hierzu S. 38 - 42).

## 2. Orientierende Untersuchungen

### a) Ermittlung des geeigneten Konzentrationsbereichs für die Fe-Bestimmung von Vollblut mittels Atomabsorptionsspektralphotometrie

Zunächst setzten wir die Eisen-Stammlösung (1 mg Fe/1 ml H<sub>2</sub>O) an und stellten hieraus Verdünnungsreihen her. Sodann wurde der Fe-Gehalt atomabsorptionsspektralphotometrisch bestimmt.

Von zwei der verschiedenen Verdünnungsreihen sind die Meßergebnisse graphisch dargestellt; Abb. 5 zeigt die für eine Reihe von Eisenlösungen im Konzentrationsbereich von 1,8 µg Fe/1 ml H<sub>2</sub>O bis 20 µg Fe/1 ml H<sub>2</sub>O erhaltenen Fe-Signale; Abb. 6 die von Fe-Lösungen für den Bereich von 5 µg Fe/1 ml H<sub>2</sub>O bis 200 µg Fe/1 ml H<sub>2</sub>O erhaltenen.

Beim Aufstellen der Eichkurven zeigte sich, daß das Fe-Absorptionssignal des Atomabsorptionsspektralphotometers bis ca. 20 µg Fe/1 ml H<sub>2</sub>O direkt proportional zur gemessenen Fe-Konzentration war. Bei höheren Fe-Konzentrationen flacht die Kurve ab (Abb. 6).

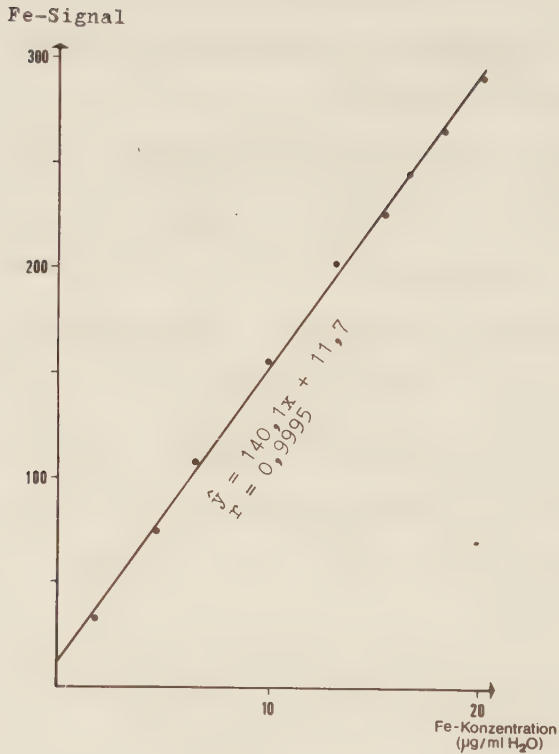


Abb. 5

Fe-Messung mittels Atomabsorptionsspektralphotometrie. Messung von wässrigen Lösungen mit einem Gehalt von 1,8 µg Fe/l ml H<sub>2</sub>O bis 20 µg Fe/l ml H<sub>2</sub>O. Zusammenhang zwischen Fe-Signal und Fe-Konzentration. Der Standard von 10 µg Fe/l ml H<sub>2</sub>O wurde auf das Fe-Signal 154 abgeglichen.

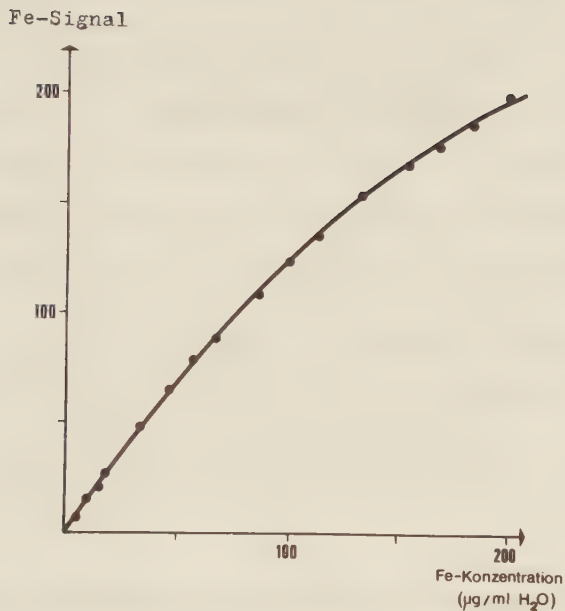


Abb. 6

Fe-Messung mittels Atomabsorptionsspektralphotometrie. Messung von wässrigen Lösungen mit einem Gehalt von 5 µg Fe/l ml H<sub>2</sub>O bis 200 µg Fe/l ml H<sub>2</sub>O. Zusammenhang zwischen Fe-Signal und Fe-Konzentration. Der Standard von 200 µg Fe/l ml H<sub>2</sub>O wurde auf das Fe-Signal 200 abgeglichen.

Nun untersuchten wir Verdünnungsreihen eines Vollblutpools. Hierzu wurde ein Poolblut (16 g Hb/100 ml) mit 0,5 %iger wässriger Triton-X-100-Lösung 1 : 25 verdünnt. Von dieser Blutlösung stellten wir Reihen mit Blutverdünnungen zwischen 1 : 25 und 1 : 1000 her. Abb. 7 zeigt die für eine Reihe von Blutlösungen mit Verdünnungen zwischen 1 : 25 und 1 : 250 erhaltenen Fe-Signale.

Die Verdünnungsreihen mit Blut zeigten bei höheren Verdünnungen als 1 : 250 eine relativ starke Streuung der Fe-Signale; die in Abb. 7 dargestellte Kurve mit Verdünnungen zwischen 1 : 25 und 1 : 250 war bei geringer Streuung der Einzelwerte linear. Eine Blutverdünnung von 1 : 51 erschien deshalb für Proben mit hohem und niedrigem Hb-Gehalt für die Fe-Messung als sehr geeignet.

b) Einstellung des Atomabsorptionsspektralphotometers

Legt man ein Molekulargewicht von 66 000 für Hb zugrunde (SCHWERD 1961, WELLER 1975), dann läßt sich die Beziehung zwischen dem Hb-Gehalt des Blutes und dem diesem Hb-Gehalt entsprechenden Fe-Gehalt in folgender Weise ausrechnen (das Serumeisen darf dabei vernachlässigt werden):

$$\begin{aligned} 4 \text{ Mol Fe} &\hat{=} 1 \text{ Mol Hb} \\ 223,2 \text{ g Fe} &\hat{=} 66\,000 \text{ g Hb} \\ 1 \text{ mg Fe} &\hat{=} 295,7 \text{ mg Hb} \end{aligned}$$

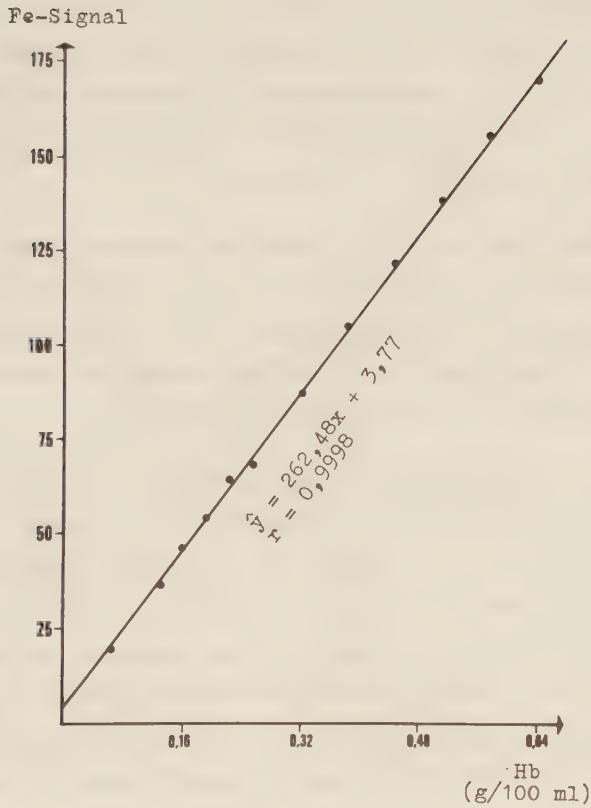


Abb. 7

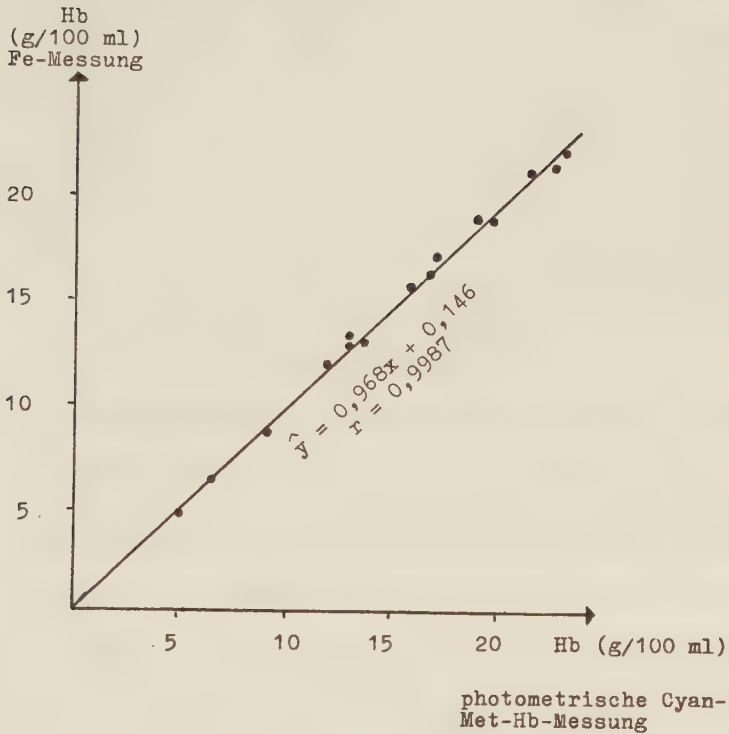
Fe-Messung mittels Atomabsorptionsspektralphotometrie. Messung von verdünnten Blutlösungen. Zusammenhang zwischen Fe-Signal und Hb-Gehalt. Der Standard von 0,64 g Hb/100 ml H<sub>2</sub>O wurde auf das Fe-Signal 170 abgeglichen.

Zur Einstellung geeigneter Meßbedingungen am Atomabsorptionsspektralphotometer wurde ein Fe-Standard von  $10\text{ }\mu\text{g Fe/l ml H}_2\text{O} = 1\text{ mg Fe/100 ml H}_2\text{O}$  verwendet. Damit entspricht die Fe-Konzentration des Standards der einer 51-fach verdünnten Blutprobe mit einem Hb-Gehalt von  $51 \times 295,7\text{ mg/100 ml} = 15,1\text{ g/100 ml}$ .

Entsprechend den vorstehenden Überlegungen wurde der Fe-Standard von  $10\text{ }\mu\text{g Fe/l ml H}_2\text{O}$  bei der Einstellung des Atomabsorptionsspektralphotometers auf das Fe-Signal 15,1 abgeglichen, damit bei der Messung der Blutproben das Ergebnis in g Hb/100 ml abzulesen war.

Bei 15 heparinisierten Blutproben wurde nun durch Hinzufügen oder Abpipettieren von Serum der Hb-Gehalt verändert, sodaß wir eine Reihe von Blutproben mit photometrisch gemessenem Hb-Gehalt zwischen  $4,9\text{ g/100 ml}$  und  $23,0\text{ g/100 ml}$  erhielten. Für jede Konzentration führten wir jeweils fünf photometrische Hb-Bestimmungen und fünf atomabsorptionsspektralphotometrische Hb-Messungen mit der eben beschriebenen Abgleichung des Gerätes durch.

Die Beziehung zwischen den Meßergebnissen der beiden Methoden zeigt Abb. 8. Man ersieht daraus, daß die nach den beiden verschiedenen Methoden erhaltenen Werte für die Hb-Konzentration der jeweiligen Blutprobe nicht identisch sind. Vielmehr liegen die über die Fe-Bestimmung ermittelten Hb-Werte in allen Konzentrationsbereichen um durchschnittlich 4,35 % niedriger.



**Abb. 8**

Vergleich zwischen der photometrischen Hb-Messung und der Hb-Bestimmung durch Fe-Messung mittels Atomabsorptionsspektralphotometrie.

Ohne jedoch die beiden Methoden mit einer definitiven Methode vergleichen zu können (eine solche definitive Methode steht bislang für die Bestimmung der Hb-Konzentration von Blut nicht zur Verfügung), kann keine Aussage darüber gemacht werden, welches der beiden Verfahren die bessere Richtigkeit aufweist. Da sich für die gaschromatographische CO-Hb-Bestimmung frischer Blutproben die photometrische Hb-Bestimmung nach DRABKIN eingeführt hat, wollten wir uns bei den Fäulnisversuchen auf mit dieser Methode erhaltene Werte beziehen, um eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Dazu war es nur nötig, alle über die Fe-Bestimmung errechneten Hb-Werte in allen Konzentrationsbereichen mit dem Faktor 1,0435 zu multiplizieren. Das war in einfacher Weise dadurch möglich, daß bei Vermessen der Fe-Standard-Lösung ( $10\text{ }\mu\text{g Fe/l ml H}_2\text{O}$ ) das Fe-Signal auf einen Wert von  $15,1 \times 1,0435 = 15,8$  eingestellt wurde.

Gleicht man das Fe-Signal des Standards nicht in der vorgeschlagenen Weise auf 15,8 ab, kann der Hb-Gehalt der untersuchten Probe über den atomabsorptionsspektrophotometrisch ermittelten Fe-Gehalt nach der Beziehung  $1\text{ mg Fe} \hat{=} \frac{295,7}{1,0435}\text{ mg Hb}$  berechnet werden.

Hinsichtlich der Präzision sind beide Methoden als gleichwertig zu betrachten; die Streuung einer Serie von 50 Probenansätzen derselben Probe, ausgedrückt als

Variationskoeffizient, war bei der photometrischen Hb-Bestimmung  $V = 1,75 \%$  und bei der atomabsorptionsspektrophotometrischen Fe-Bestimmung  $V = 2,38 \%$ .

### 3. Diskussion

ZETTNER und MENSCH (1967) fanden bei ihren Untersuchungen mit einem Atomabsorptionsspektrophotometer der Firma Perkin Elmer, Modell 303, daß sogar bei einer Verdünnung des Blutes von 1 : 200 keine lineare Beziehung zwischen Fe-Konzentration des Blutes und Fe-Signal bestünde, sondern eine Eichkurve nötig sei.

VAN ASSENDELFT et al. (1968) fanden bei einem Atomabsorptionsspektrophotometer der Firma Unicam, Modell SP 90, daß die Viskosität einer Blutlösung einen Einfluß auf das pro Zeiteinheit angesaugte Probenvolumen habe. Mit steigender Viskosität der Lösung würde bei gleichem Fe-Gehalt ein Absinken des Fe-Konzentrationsignals erfolgen. Diese Tatsache ist unter Umständen der Grund dafür, daß bei unserem Vergleich die einerseits photometrisch, andererseits über die Fe-Messung ermittelten Hb-Werte um durchschnittlich 4,35 % differierten.

Wenn man die durch die Fe-Messung ermittelten Hb-Werte mit dem Faktor 1,0435 multipliziert und dann graphisch gegen die entsprechenden photometrisch gemessenen Hb-Werte aufträgt, so wird der Zusammenhang der Wertpaare durch die Gerade  $y = 0,992 x + 0,124$  beschrieben, welche

in guter Näherung dem "idealen" Zusammenhang  $y = x$  entspricht.

Da das Atomabsorptionsspektralphotometer einen relativ hohen Rauschpegel hat, ergibt sich für Blutproben mit Werten unter 2 g Hb/100 ml ein relativ großer Meßfehler. Bei solchen niedrigen Hb-Konzentrationen sollte entweder das Blut weniger stark verdünnt oder ein Fe-Standard geringerer Konzentration als Bezugsgröße verwendet werden, wobei man dann die Empfindlichkeit des Geräts entsprechend erhöht.

Vergleicht man nun die Praktikabilität der beiden Methoden zur Hb-Messung, so sind sie bezüglich ihres Arbeitsaufwands als etwa gleichwertig anzusehen. Der Nachteil eines Atomabsorptionsspektralphotometers liegt einerseits in den höheren Betriebskosten, andererseits aber auch darin, daß erst relativ wenige Labors ein solches Gerät besitzen.

Bei frischen Blutproben ist deshalb sicherlich die photometrische Hb-Bestimmung die Methode der Wahl. Bei veränderten und gefaulten Blutproben wird sich jedoch zeigen, daß die atomabsorptionsspektralphotometrische Fe-Bestimmung weit überlegen ist, weil in faulen Blutproben ein mehr oder weniger großer Teil des Hb nicht mehr in einer solchen Form vorliegt, daß es mit der Methode von DRABKIN erfaßt werden kann. Hier ist allein die Ermittlung des ursprünglich vorhandenen Hb über die Fe-Bestimmung möglich.

#### IV. UNTERSUCHUNG VON LÄNGERE ZEIT GELAGERTEN UND GEFAULTEN CO-HB-HALTIGEN BLUTPROBEN

##### A) Einleitung

Für den gerichtsmedizinischen Bereich ist die Frage, ob und wie sich der CO-Hb-Gehalt von Blut verändert, wenn dieses längere Zeit aufbewahrt wird, von großer praktischer Bedeutung: Nicht jede Blutprobe kann aus organisatorischen Gründen sofort nach ihrer Entnahme untersucht werden; Blutproben, die während des Postversands einige Tage lang höheren Temperaturen ausgesetzt waren, müssen untersucht werden; manchmal tritt erst später, wenn Blutproben schon einige Zeit aufbewahrt worden sind, die Frage nach einer CO-Vergiftung auf.

Um die möglichen Veränderungen näher zu untersuchen, führten wir zwei Versuchsreihen durch, bei denen Blutproben mit verschieden hohem CO-Hb-Gehalt bei unterschiedlichen Bedingungen längere Zeit aufbewahrt und dann untersucht wurden.

Die Frage, wie sich der CO-Hb-Gehalt des Blutes in Leichen bei deren Fäulnis ändert, sollte mit den Versuchen nur am Rande erörtert werden, da dazu anders aufgebaute Experimente notwendig gewesen wären.

##### B) Material und Bedingungen der Aufbewahrung

Durch Mischen von CO-gesättigtem Blut mit unbehandeltem

Blut des gleichen heparinisierten Pools wurden Blutproben mit 4 verschiedenen CO-Hb-Konzentrationen hergestellt: 70 % CO-Hb, 40 % CO-Hb, 10 % CO-Hb und Blut mit einem physiologischen Gehalt an CO, ab jetzt als "0 %" CO-Hb bezeichnet.

Die Aufbewahrung der Blutproben erfolgte in verschlossenen Serumfläschchen, von denen ein Teil vorher mit Helium luftfrei gespült worden war (als "anaerobe" Aufbewahrung bezeichnet), der andere Teil Luftatmosphäre enthielt (als "aerobe" Aufbewahrung bezeichnet).

Die gefüllten Serumfläschchen wurden entweder unter Lichtabschluß bei hochsommerlichen Temperaturen am Zimmerfenster (als "warm" gelagert bezeichnet) oder im Kühlschrank (als "kühl" gelagert bezeichnet) aufbewahrt.

Wir bewahrten also die Blutproben unter folgenden vier Bedingungen auf:

- 1) kühl und anaerob
- 2) kühl und aerob
- 3) warm und anaerob
- 4) warm und aerob

#### 1. Probenvorbereitung und Probenansatz

Je ca. 4 ml der Blutproben mit 70 %, 40 %, 10 % und "0 %" CO-Hb injizierten wir mit einer Spritze in ein verschlossenes Serumfläschchen von 26,26 ml Inhalt. Die Fläschchen enthielten entweder Luft oder Helium.

Eine Reihe von vier Serumfläschchen, die Blut mit den vier

verschiedenen CO-Hb-Konzentrationen enthielten, bezeichnen wir von nun an als "Serie".

Der CO-Gehalt der frischen Blutproben wurde in Doppelbestimmungen, der Hb- und Fe-Gehalt in Dreifachbestimmungen ermittelt und als Vergleich für die längere Zeit aufbewahrten Blutproben herangezogen.

## 2. Erster Versuch

4 Serien von Blutproben wurden angesetzt; 2 Serien bewahrten wir "warm und anaerob", 1 Serie "warm und aerob", 1 Serie "kühl und anaerob" auf.

Nach 15 Tagen wurde aus einer "warm und aerob" und einer "warm und anaerob" aufbewahrten Serie mittels Spitze und Kanüle 2 ml Blut entnommen und auf ihren CO-, Fe- und Hb-Gehalt untersucht. Die Serumfläschchen blieben dabei verschlossen.

Die Blutproben, die am Tage des Ansatzes einen klaren Serumüberstand gezeigt hatten, wiesen nun einen stark hämolytischen Serumüberstand auf. Die korpuskulären Bestandteile waren teilweise koaguliert, man konnte sie durch Aufschütteln jedoch wieder fast vollständig verflüssigen. Auf den "warm und aerob" aufbewahrten Blutproben mit 70 %, 10 % und "0 %" CO-Hb hatte sich ein weißlicher Schimmel gebildet, der die Blutoberfläche zum Teil bedeckte. Bei der Entnahme von Blut aus den Serumfläschchen mit einer Spritze und einer Kanüle Nr. 1 fand sich in allen Blut-

proben ein großer elastischer Blutkoagel, der nicht aspiriert werden konnte. Es gelang aber trotzdem, aus allen Proben eine genügende Menge von 2 ml Blut zu aspirieren.

Nach 49 Tagen untersuchten wir die "kühl und anaerob" gelagerten Proben, die verbliebenen 2 ml Blut der "warm und aerob" gelagerten Serie und die zweite "warm und anaerob" aufbewahrte Serie. Diesmal wurden die Serumfläschchen geöffnet und das Blut direkt herauspipettiert.

Die acht "warm und anaerob" und "warm und aerob" gelagerten Blutproben waren teilweise hämolytisch und zeigten kaum Koagulation; von den vier "warm und aerob" aufbewahrten Proben, bei denen nach dem ersten Teil des Versuchs nur ein großer Koagel zurückgeblieben war, hatte sich dieser teilweise aufgelöst und verflüssigt. Die vier "kühl und anaerob" aufbewahrten Proben zeigten keinen Serumüberstand mehr und waren vollständig, aber nur leicht koaguliert und ließen sich beim Aufschütteln wieder verflüssigen.

### 3. Zweiter Versuch

Es wurden 8 Serien von Blutproben angesetzt, 2 Serien wurden "kühl und anaerob", 2 Serien "kühl und aerob", 2 Serien "warm und anaerob" und 2 Serien "warm und aerob" aufbewahrt. 15 und 29 Tage nach Probenansatz untersuchten wir jeweils eine Serie jeder Aufbewahrungsart.

Die Serumfläschchen wurden gut geschüttelt, geöffnet, und das Blut wurde herauspipettiert.

15 Tage nach Ansatz hatten die "warm und anaerob" aufbewahrten Blutproben ein homogenes, nicht hämolytisches Blut ohne Serumüberstand und ohne sichtbare Koagel; die "warm und aerob" aufbewahrten Proben zeigten zusätzlich einen großen, nicht sehr festen Koagel, der sich durch starkes Schütteln der Serumfläschchen teilweise verflüssigen ließ. Alle "kühl" gelagerten Proben hatten einen mäßigen hämolytischen Serumüberstand und einige kleine, lockere Koagel.

Nach 29 Tagen waren die "warm und anaerob" aufbewahrten Blutproben vollständig hämolytisch und es befanden sich keine sichtbaren Koagel darin. Die "kühl anaerob" und "kühl aerob" gelagerten Proben zeigten einen stark hämolytischen Serumüberstand, das Blut bestand aus einem großen, lockeren Koagel, der sich durch kräftiges Schütteln verflüssigen ließ.

### C) Durchführung der Messung

Der CO-Gehalt der Blutproben wurde nach der Methode von LAUTENBACH et al. (S. 13 - 21) durch Doppelbestimmungen ermittelt. Der Hb-Gehalt wurde nach der photometrischen Cyan-Met-Hb-Methode (S. 22 - 23) und mittels atomabsorptionsspektralphotometrischer Fe-Bestimmung (S. 32 - 34) ermittelt. Der Hb- und Fe-Gehalt der Proben des ersten Versuchs wurde durch Dreifachbestimmungen, der des zwei-

ten Versuchs durch Doppelbestimmungen ermittelt.

### 1. Technik des Pipettierens alter Blutproben

Bei allen vier Untersuchungsgängen mußte das Blut erst weitgehend homogenisiert werden, ehe eine Entnahme mit Spritze und Kanüle oder mit einer Pipette möglich war. Dies wurde durch kräftiges Schütteln der Serumfläschchen erreicht. Das Pipettieren der Blutproben war in allen Fällen schwierig, da kleine Koagel die Pipettenspitze häufig verstopften. Durch fortwährendes Aufstoßen der Pipettenspitze am Boden des Serumfläschchens oder durch Schaben mit der Pipettenspitze am Boden des Gefäßes während des Ansaugvorgangs gelang es jedoch jedesmal die gewünschten Volumina zu pipettieren.

Auf eine Homogenisierung des Blutes nach der auf S. 15 beschriebenen Methode wurde verzichtet, da nur ein relativ geringes Blutvolumen zur Verfügung stand und wir den CO-Verlust so klein wie möglich halten wollten.

Da das Blut auch nach dem Schütteln noch nicht völlig homogen war und wir es möglichst vermeiden wollten, Teile der Blutprobe mit unterschiedlich hoher Konzentration an korpuskulären Bestandteilen für die verschiedenen Untersuchungen zu pipettieren, gingen wir folgendermaßen vor: Nach dem Öffnen des Serumfläschchens saugten wir mit einer 0,5-ml-Pipette Blut für die Bestimmung des CO an, wobei die Pipette weit über die 0,5-ml-Marke aufgefüllt

wurde. Das überschüssige Blut ließen wir in ein Reagenzglas laufen und 0,5 ml Blut wurden ins Serumfläschchen für die CO-Bestimmung pipettiert. Somit konnten bei doppeltem Probenansatz für die CO-Messung 0,6 - 0,8 ml Blut in das Reagenzglas abgegeben werden. Dieses Blut hatte nun näherungsweise die gleiche Zusammensetzung wie das für die CO-Bestimmung. Aus dem Reagenzglas wurden dann die Blutproben für die Hb- und Fe-Bestimmung pipettiert.

#### D) Meßergebnisse

Die gemessenen CO-, Hb- und Fe-Werte und die daraus errechneten CO-Hb-Werte (einmal mit dem Fe-Gehalt, einmal mit dem Hb-Gehalt als Bezugsgröße) der beiden Fäulnisversuche sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Tabelle 2:                    Meßergebnisse der Fäulnisversuche

In der Tabelle werden folgende Abkürzungen verwendet:

Für die Aufbewahrungsart

|       |                             |
|-------|-----------------------------|
| He kü | anaerob und kühl aufbewahrt |
| He wa | anaerob und warm aufbewahrt |
| Lu kü | aerob und kühl aufbewahrt   |
| Lu wa | aerob und warm aufbewahrt   |

Die Zahl hinter der Aufbewahrungsart gibt die Aufbewahrungsdauer in Tagen an; He kü 49 bedeutet also, daß eine Blutprobe 49 Tage lang anaerob und kühl aufbewahrt wurde.

Für die Meßwerte

|           |                                                                   |
|-----------|-------------------------------------------------------------------|
| Hb        | photometrisch gemessener Hb-Gehalt                                |
| Hb(Fe)    | atomabsorptionsspektralphotometrisch gemessener Hb-Gehalt         |
| CO-Hb(Hb) | aus der Peakfläche und Hb-Gehalt errechneter CO-Hb-Gehalt         |
| CO-Hb(Fe) | aus der Peakfläche und dem Hb(Fe)-Gehalt errechneter CO-Hb-Gehalt |

Die Werte, die mehr als 10 % vom Frischblutwert abweichen, sind unterstrichen. Ausgenommen davon sind die Werte der Blutproben "0 %" CO-Hb, da sich hier naturgemäß stärkere Streuungen ergeben.

# I. Fäulnisversuch

| Blutprobe             | Peakflä-<br>che(mm <sup>2</sup> ) | Hb<br>( $\frac{g}{100\text{ ml}}$ ) | Hb(Fe)<br>( $\frac{g}{100\text{ ml}}$ ) | CO-Hb(Hb)<br>(%) | CO-Hb(Fe)<br>(%) |
|-----------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------|------------------|------------------|
| <u>"0%" CO-Hb</u>     |                                   |                                     |                                         |                  |                  |
| Blut frisch           | 5251                              | 14,4                                | 14,2                                    | 1,9              | 1,9              |
| Aufbewah-<br>rungsart |                                   |                                     |                                         |                  |                  |
| He kü 49              | 5957                              | 14,2                                | 14,2                                    | 2,2              | 2,2              |
| He wa 15              | 5036                              | 14,7                                | 14,1                                    | 1,8              | 1,9              |
| He wa 49              | 5516                              | 15,0                                | 14,1                                    | 1,9              | 2,0              |
| Lu wa 15              | 6216                              | 15,1                                | 14,3                                    | 2,1              | 2,3              |
| Lu wa 49              | 6765                              | 14,3                                | 14,1                                    | 2,5              | 2,5              |
| <u>10 % CO-Hb</u>     |                                   |                                     |                                         |                  |                  |
| Blut frisch           | 34107                             | 14,9                                | 14,5                                    | 11,9             | 12,2             |
| Aufbewah-<br>rungsart |                                   |                                     |                                         |                  |                  |
| He kü 49              | 33288                             | 14,7                                | 14,4                                    | 11,8             | 12,0             |
| He wa 15              | 28548                             | 14,3                                | 14,0                                    | 10,4             | 10,6             |
| He wa 49              | 34664                             | 15,3                                | 14,6                                    | 11,7             | 12,3             |
| Lu wa 15              | 31149                             | 15,0                                | 13,6                                    | 10,8             | 11,9             |
| Lu wa 49              | 35731                             | 16,3                                | 14,5                                    | 11,3             | 12,8             |
| <u>40 % CO-Hb</u>     |                                   |                                     |                                         |                  |                  |
| Blut frisch           | 125 353                           | 14,6                                | 14,0                                    | 44,6             | 46,5             |
| Aufbewah-<br>rungsart |                                   |                                     |                                         |                  |                  |
| He kü 49              | 132756                            | 14,6                                | 14,4                                    | 47,3             | 47,9             |
| He wa 15              | 101438                            | 12,6                                | 13,3                                    | 41,8             | 39,6             |
| He wa 49              | 123915                            | 15,4                                | 14,5                                    | 41,9             | 44,3             |
| Lu wa 15              | 113942                            | 15,1                                | 14,0                                    | 39,2             | 42,2             |
| Lu wa 49              | 128223                            | 14,5                                | 14,8                                    | 45,9             | 45,1             |
| <u>70 % CO-Hb</u>     |                                   |                                     |                                         |                  |                  |
| Blut frisch           | 214920                            | 14,6                                | 14,2                                    | 76,4             | 78,6             |
| Aufbewah-<br>rungsart |                                   |                                     |                                         |                  |                  |
| He kü 49              | 207775                            | 14,3                                | 14,6                                    | 75,7             | 74,0             |
| He wa 15              | 192579                            | 14,5                                | 14,2                                    | 68,9             | 70,4             |
| He wa 49              | 198748                            | 15,1                                | 14,5                                    | 68,2             | 71,0             |
| Lu wa 15              | 191725                            | 15,9                                | 15,4                                    | 62,6             | 69,1             |
| Lu wa 49              | 226570                            | 14,2                                | 14,3                                    | 83,0             | 82,2             |

## II. Fäulnisversuch

| Blutprobe         | Peakfläche (mm <sup>2</sup> ) | Hb<br>( $\frac{g}{100\text{ ml}}$ ) | Hb(Fe)<br>( $\frac{g}{100\text{ ml}}$ ) | CO-Hb(Hb)<br>(%) | CO-Hb(Fe)<br>(%) |
|-------------------|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------|------------------|------------------|
| <u>"0%" CO Hb</u> |                               |                                     |                                         |                  |                  |
| Blut frisch       | 5689                          | 14,9                                | 15,0                                    | 2,0              | 2,0              |
| Aufbewahrungsart  |                               |                                     |                                         |                  |                  |
| He kü 15          | 5663                          | 14,4                                | 14,3                                    | 2,0              | 2,1              |
| He kü 29          | 5726                          | 14,6                                | 15,3                                    | 2,0              | 1,9              |
| Lu kü 15          | 6863                          | 14,6                                | 14,5                                    | 2,4              | 2,5              |
| Lu kü 29          | 6198                          | 14,9                                | 15,1                                    | 2,2              | 2,1              |
| He wa 15          | 6479                          | 17,3                                | 14,2                                    | 2,0              | 2,4              |
| He wa 29          | 6645                          | 16,8                                | 15,1                                    | 2,1              | 2,3              |
| Lu wa 15          | 10741                         | 21,2                                | 14,3                                    | 2,6              | 3,9              |
| Lu wa 29          | 12152                         | 21,1                                | 14,5                                    | 3,0              | 4,4              |
| <u>10 % CO-Hb</u> |                               |                                     |                                         |                  |                  |
| Blut frisch       | 37414                         | 15,0                                | 15,2                                    | 13,0             | 12,8             |
| Aufbewahrungsart  |                               |                                     |                                         |                  |                  |
| He kü 15          | 37632                         | 14,5                                | 14,1                                    | 13,4             | 13,8             |
| He kü 29          | 39526                         | 14,6                                | 15,0                                    | 14,0             | 13,7             |
| Lu kü 15          | 38820                         | 15,0                                | 14,7                                    | 13,4             | 13,7             |
| Lu kü 29          | 37787                         | 15,1                                | 14,8                                    | 13,0             | 13,3             |
| He wa 15          | 36215                         | <u>16,9</u>                         | 14,4                                    | <u>11,1</u>      | 13,1             |
| He wa 29          | 35666                         | <u>16,9</u>                         | 15,1                                    | <u>11,0</u>      | 12,3             |
| Lu wa 15          | 38604                         | <u>19,6</u>                         | 14,1                                    | <u>10,2</u>      | <u>14,2</u>      |
| Lu wa 29          | 36440                         | <u>20,6</u>                         | 14,4                                    | <u>9,1</u>       | <u>12,3</u>      |

## II. Fäulnisversuch, Fortsetzung

| Blutprobe             | Peakflä-<br>che(mm <sup>2</sup> ) | Hb<br>$\left(\frac{\text{g}}{100 \text{ ml}}\right)$ | Hb(Fe)<br>$\left(\frac{\text{g}}{100 \text{ ml}}\right)$ | CO-Hb(Hb)<br>(%) | CO-Hb(Fe)<br>(%) |
|-----------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------|------------------|
| <u>40 % CO-Hb</u>     |                                   |                                                      |                                                          |                  |                  |
| Blut frisch           | 131319                            | 14,9                                                 | 15,1                                                     | 45,6             | 45,3             |
| Aufbewah-<br>rungsart |                                   |                                                      |                                                          |                  |                  |
| He kü 15              | 133664                            | 14,7                                                 | 14,3                                                     | 47,3             | 48,6             |
| He kü 29              | 139502                            | 15,2                                                 | 14,9                                                     | 47,8             | 48,7             |
| Lu kü 15              | 136427                            | 15,1                                                 | 14,5                                                     | 47,0             | 48,7             |
| Lu kü 29              | 134145                            | 15,2                                                 | 15,1                                                     | 45,9             | 46,2             |
| He wa 15              | 133384                            | <u>16,7</u>                                          | 14,1                                                     | 41,4             | 49,0             |
| He wa 29              | 126350                            | <u>16,3</u>                                          | 15,1                                                     | <u>40,2</u>      | 43,5             |
| Lu wa 15              | <u>114050</u>                     | <u>18,0</u>                                          | 14,2                                                     | <u>32,8</u>      | 41,8             |
| Lu wa 29              | <u>100628</u>                     | <u>19,4</u>                                          | 15,1                                                     | <u>27,0</u>      | <u>34,7</u>      |
| <u>70 % CO-Hb</u>     |                                   |                                                      |                                                          |                  |                  |
| Blut frisch           | 215896                            | 15,3                                                 | 15,5                                                     | 73,4             | 72,3             |
| Aufbewah-<br>rungsart |                                   |                                                      |                                                          |                  |                  |
| He kü 15              | 219810                            | 14,7                                                 | 14,3                                                     | 77,7             | <u>79,8</u>      |
| He kü 29              | 210297                            | 14,9                                                 | 14,9                                                     | 73,5             | <u>73,4</u>      |
| Lu kü 15              | 218289                            | 15,4                                                 | 14,9                                                     | 73,7             | 76,3             |
| Lu kü 29              | 219517                            | 15,5                                                 | 15,2                                                     | 73,6             | 75,2             |
| He wa 15              | 215708                            | <u>16,9</u>                                          | 14,2                                                     | 66,1             | 79,0             |
| He wa 29              | 199651                            | <u>15,8</u>                                          | 15,1                                                     | <u>65,5</u>      | 68,8             |
| Lu wa 15              | 218270                            | <u>17,2</u>                                          | 14,4                                                     | 66,1             | 78,8             |
| Lu wa 29              | 206137                            | <u>16,7</u>                                          | 14,7                                                     | <u>64,1</u>      | 73,1             |

Einige Veränderungen im CO-Hb-Gehalt und im photometrisch bestimmten Hb-Gehalt der Blutproben während der Fäulnis sind auffällig, sodaß sie anschließend kurz beschrieben und in einigen Tabellen und Abbildungen dargestellt werden sollen.

### 1. Erster Fäulnisversuch

Neben einigen Trends, die sich im zweiten Versuch besser zeigten und dort beschrieben werden, ergab sich folgendes: Die "warm und aerob" aufbewahrten Blutproben zeigten 15 Tage nach Probenansatz einen deutlichen Abfall des CO-Hb-Gehalts, 49 Tage nach dem Probenansatz war der CO-Hb-Gehalt wieder angestiegen; in zwei Fällen lag er über dem des Frischblutwerts. In Tabelle 3 sind die Verhältnisse dargestellt; zur Berechnung des CO-Hb-Gehalts wurde der Fe-Wert als Bezugsgröße verwendet, die Blutprobe "0 %" CO-Hb wurde nicht berücksichtigt.

Tabelle 3: Prozentuale Abweichung des CO-Hb-Gehalts vom Frischblutwert der "warm und aerob" 15 und 49 Tage lang aufbewahrten Blutproben.

|                       | CO-Hb<br>(%) | Abwch.<br>(%) | CO-Hb<br>(%) | Abwch.<br>(%) | CO-Hb<br>(%) | Abwch.<br>(%) |
|-----------------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|---------------|
| Frish-<br>blutwert    | 12,2         |               | 46,5         |               | 78,6         |               |
| 15 Tage<br>aufbewahrt | 11,9         | - 2,6         | 42,2         | - 9,1         | 69,1         | -12,0         |
| 49 Tage<br>aufbewahrt | 12,8         | + 4,6         | 45,1         | - 3,0         | 82,2         | + 4,7         |

Abwch. = Abweichung

## 2. Zweiter Fäulnisversuch

### a) Unterschiede zwischen der Hb-Messung und der Hb-Bestimmung durch Fe-Messung

Bei den "warm und aerob" und "warm und anaerob" gelagerten Blutproben fallen große Unterschiede zwischen dem photometrisch gemessenen Hb-Gehalt und dem mittels Fe-Messung ermittelten Hb-Gehalt auf. In Abb. 9 ist der Unterschied bei den 15 und 29 Tage lang "warm und aerob" aufbewahrten Blutproben dargestellt.

Wie sich der photometrisch ermittelte Hb-Wert bei den 15 Tage lang "aerob und warm" aufbewahrten Proben verändert hat, gibt Tabelle 4 an.

Tabelle 4:

Bestimmung des Hb-Gehalts von Blutproben mit unterschiedlich hohem CO-Hb-Gehalt durch photometrische Cyan-Met-Hb-Messung. Die erste Messung erfolgte bei frischem Blut, die zweite nach 15-tägiger "aerob und warmer" Aufbewahrung der Blutproben. Angabe der relativen Abweichung des 15-Tage-Werts vom Frischblutwert.

| Blutprobe  | Hb-Gehalt des<br>Frischblutes<br>(g/100 ml) | Hb-Gehalt<br>nach 15 Tagen<br>(g/100 ml) | relative<br>Abweichung |
|------------|---------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------|
| "0%" CO-Hb | 14,9                                        | 21,2                                     | + 41,9 %               |
| 10% CO-Hb  | 15,0                                        | 19,6                                     | + 30,8 %               |
| 40% CO-Hb  | 14,9                                        | 18,0                                     | + 20,7 %               |
| 70% CO-Hb  | 15,3                                        | 17,2                                     | + 12,8 %               |

Bei den "aerob und warm" aufbewahrten Proben betrug die größte Abweichung der Fe-Werte von den Frischblut-Fe-Werten lediglich 7,2 % (10 % CO-Hb).

Hb  
(g/100 ml)

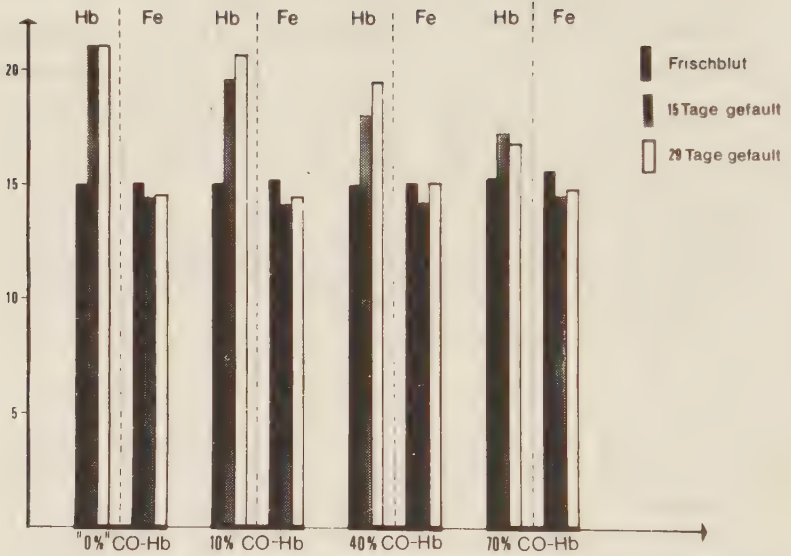


Abb. 9

II. Fäulnisversuch. Bestimmung des Hb-Gehalts durch photometrische Cyan-Met-Hb-Messung (= Hb) und mittels atomabsorptionsspektralphotometrischer Fe-Messung (= Fe) von Blutproben mit unterschiedlich hohem CO-Hb-Gehalt. Messung von frischen Blutproben und von 15 oder 29 Tage lang aerob und warm gelagerten (= gefaulten) Blutproben.

In Abb. 10 ist die Abweichung des photometrisch bestimmten Hb-Gehalts vom über den Fe-Wert ermittelten Hb-Gehalt bei den 29 Tage lang "warm und aerob" und "warm und anaerob" aufbewahrten Blutproben angegeben. Als Vergleich sind die Werte der "aerob und kühl" gelagerten Proben aufgeführt.

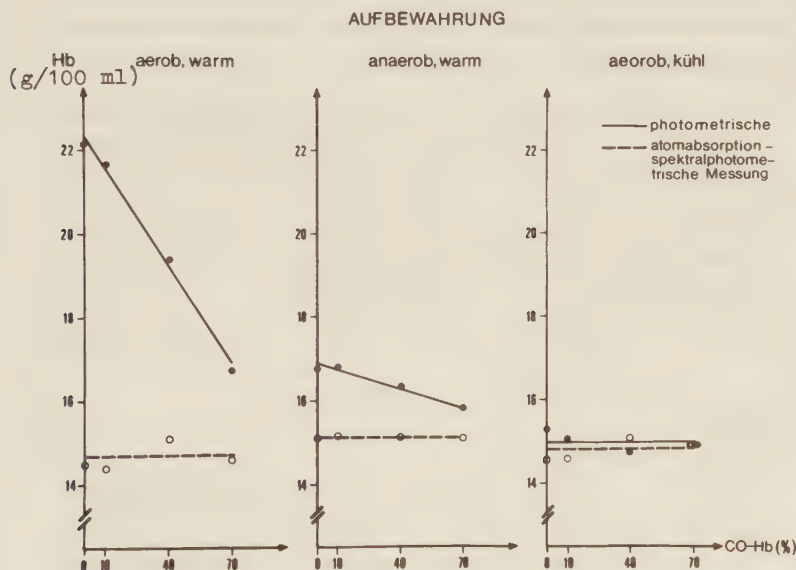


Abb. 10

II. Fäulnisversuch. Mittels atomabsorptionsspektralphotometrischer Fe-Messung und durch photometrische Messung bestimmter Hb-Gehalt von Blutproben mit unterschiedlich hohen CO-Hb-Konzentrationen. Die Blutproben wurden unter unterschiedlichen Bedingungen 29 Tage lang aufbewahrt.

Wie sich dieser photometrisch falsch zu hoch gemessene Hb-Gehalt auf die Berechnung der CO-Hb-Konzentration auswirkt, soll in Tabelle 5 verdeutlicht werden.

Tabelle 5:

Prozentuale Abweichung der 15 Tage lang "aerob und warm" gelagerten Proben vom Frischblutwert. Die Berechnung des CO-Hb-Gehalts erfolgte mit Hilfe des photometrischen Hb-Gehalts und unter Verwendung des über den Fe-Gehalt berechneten Hb-Gehalts. Die Blutproben "0%" CO-Hb blieben unberücksichtigt.

|          | CO-Hb(Hb)<br>(%) | Abwch.<br>(%) | CO-Hb(Fe)<br>(%) | Abwch.<br>(%) | Diff.<br>Abwch. |
|----------|------------------|---------------|------------------|---------------|-----------------|
| Fr.-Blut | 13,0             |               | 12,8             |               |                 |
| 15 Tage  | 10,2             | - 21,5        | 14,2             | + 10,9        | 32,4            |
| Fr.-Blut | 45,6             |               | 45,3             |               |                 |
| 15 Tage  | 32,8             | - 28,1        | 41,8             | - 7,7         | 20,4            |
| Fr.-Blut | 73,4             |               | 72,3             |               |                 |
| 15 Tage  | 66,1             | - 9,9         | 78,8             | + 9,9         | 19,8            |

Legende

- CO-Hb(Hb) : Mittels photometrisch gemessenem Hb-Gehalt berechneter CO-Hb-Gehalt der Blutprobe
- CO-Hb(Fe) : Mittels über die Fe-Messung bestimmtem Hb-Gehalt berechneter CO-Hb-Gehalt der Blutprobe
- Abwch. : Prozentuale Abweichung des 15-Tage-Werts vom Frischblutwert
- Diff.Abwch. : Differenz der Abweichungen von CO-Hb(Hb) und CO-Hb(Fe)
- Fr.-Blut : Frisches Blut
- 15 Tage : 15 Tage lang "aerob und warm" aufbewahrtes Blut

b) Proben mit starker Abweichung vom Frischblutwert

Bei der Aufbewahrungsart "kühl und anaerob", "kühl und aerob" und "warm und anaerob" fanden wir nur geringfügige Abweichungen vom Frischblutwert; auch spielte es hier keine sehr große Rolle, ob zur Berechnung des CO-Hb-Gehalts der photometrische Hb-Wert oder der bei der Fe-Messung erhaltene Hb-Wert herangezogen wurde. Bei den "warm und aerob" aufbewahrten Proben "0 %" CO-Hb und 40 % CO-Hb fanden sich große Änderungen des CO-Hb-Gehalts während des Fäulnisvorgangs. In Tabelle 6 werden die Veränderungen dargestellt.

Tabelle 6:                    Prozentuale Änderung des CO-Hb-Gehalts während des Fäulnisvorgangs von Blutproben, welche 15 bzw. 29 Tage lang "warm und aerob" aufbewahrt wurden.

|                          | CO-Hb(Hb)<br>(%) | Abwch.<br>(%) | CO-Hb(Fe)<br>(%) | Abwch.<br>(%) |
|--------------------------|------------------|---------------|------------------|---------------|
| Blutprobe<br>"0 %" CO-Hb |                  |               |                  |               |
| Blut frisch              | 2,0              |               | 2,0              |               |
| 15 Tage                  | 2,6              | + 30,0        | 3,9              | + 45,0        |
| 29 Tage                  | 3,0              | + 50,0        | 4,4              | +120,0        |
| Blutprobe<br>40 % CO-Hb  |                  |               |                  |               |
| Blut frisch              | 45,6             |               | 45,3             |               |
| 15 Tage                  | 32,8             | - 28,1        | 41,8             | - 7,7         |
| 29 Tage                  | 27,0             | - 40,8        | 34,7             | - 23,4        |

Legende siehe Tabelle 5

### 3. Graphische Darstellung der Änderung des CO-Hb-Gehalts aller gelagerter Blutproben

In Abb. 11 wird die prozentuale Abweichung des CO-Hb-Gehalts aller gelagerter Blutproben des I. und II. Fäulnisversuchs vom Frischblutwert dargestellt, wobei wieder der photometrisch bestimmte Hb-Gehalt und der über Fe-Messung ermittelte Hb-Gehalt der Blutproben als Bezugsgrößen für die Berechnung des CO-Hb-Gehalts verwendet wurden.

Die Werte für "0%" CO-Hb und für die "kühl aerob" aufbewahrten Proben sind in die Abbildung nicht aufgenommen, erstere würden wegen der naturgemäß stärkeren Streuung das Bild verzerren, letztere wurden nur im II. Fäulnisversuch bestimmt. Abb. 11 soll einen Eindruck vermitteln, welche Abweichungen des CO-Hb-Gehalts vom Frischblutwert bei den beiden Fäulnisversuchen aufgetreten sind.

### 4. Gasphasenuntersuchung während der Fäulnis

Weiter unten in Tabelle 7 ist angegeben, welcher CO-Gehalt in der Gasphase der Serumfläschchen von Blutproben mit 70 % CO-Hb des ersten und zweiten Fäulnisversuchs nach einer Aufbewahrungszeit von einem bzw. 15 Tagen vorgefunden wurde. Es sind die Mittelwerte der Ergebnisse aus beiden Fäulnisversuchen angeführt.

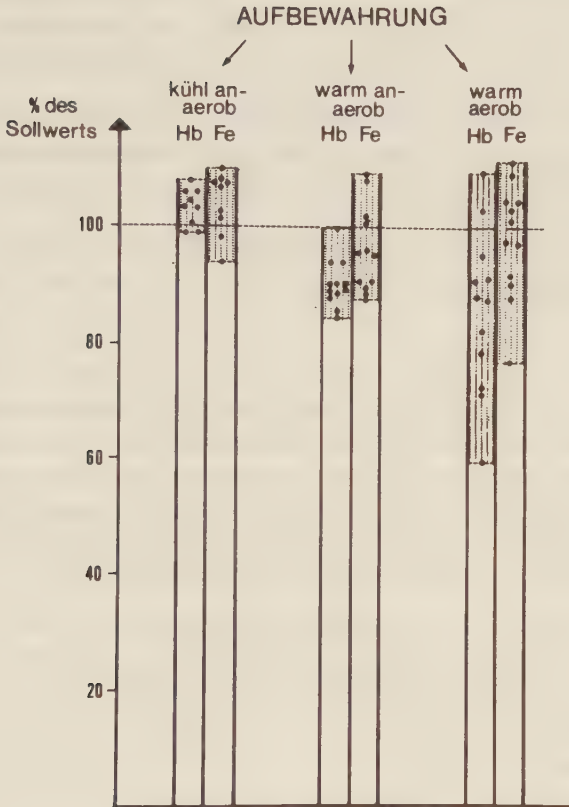


Abb. 11

Prozentuale Abweichung des CO-Hb-Gehalts der gefaulten Blutproben vom Frischblutwert (= Sollwert). Die Berechnung des CO-Hb-Gehalts erfolgte über den photometrisch gemessenen Hb-Wert (= Hb) und über den mittels Fe-Messung erhaltenen Hb-Wert (= Fe). Die Proben "0 %" CO-Hb und "kühl aerob" blieben unberücksichtigt.

Aus den mit etwa 4 ml Blut gefüllten Serumfläschchen waren jeweils 0,5 ml Gasphase entnommen und gaschromatographisch untersucht worden. Da keine exakt abgemessenen Blutmengen in die Serumfläschchen abgefüllt worden waren, ergaben sich bei den Gasphasenuntersuchungen größere Streuungen; deshalb erfolgt die Angabe der CO-Konzentrationen gerundet; der Einfachheit halber ist direkt die gaschromatographisch ermittelte Peakfläche angegeben.

Tabelle 7:

CO-Gehalt der Gasphase von Serumfläschchen der Blutproben 70 % CO-Hb, die unter verschiedenartigen Bedingungen unterschiedlich lang aufbewahrt wurden. "Verhältnis" bedeutet das Verhältnis aus CO-Gehalt der Gasphase nach einem Tag Aufbewahrung zu CO-Gehalt der Gasphase nach 15 Tagen Aufbewahrung. Die Peakfläche wurde gerundet.

| <u>Blutprobe 70 % CO-Hb</u> |                                   |                                    |            |
|-----------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|------------|
| Aufbewahrung                | Peakfläche nach<br>1 Tag Lagerung | Peakfläche nach<br>15 Tgn.Lagerung | Verhältnis |
| kühl anaerob                | 6 000                             | 5 000                              | 1,2        |
| kühl aerob                  | 54 000                            | 70 000                             | 0,77       |
| warm anaerob                | 6 000                             | 7 000                              | 0,86       |
| warm aerob                  | 54 000                            | 9 000                              | 6          |

Die Tabelle 7 zeigt, daß der CO-Gehalt der Gasphase bei "kühl anaerob", "kühl aerob" und "warm anaerob" aufbewahrten Blutproben etwa gleich geblieben, bei den "warm und aerob" gelagerten Blutproben jedoch nach 15 Tagen auf 1/6 des Ausgangswertes abgefallen ist.

## E) Diskussion

### 1. Einleitung

Das Ausmaß der CO-Produktion oder des CO-Abbaus bei Blutproben während der Fäulnis hängt zu einem großen Teil von der bakteriellen Kontamination der Proben ab. Diese ist jedoch niemals vollständig kontrollierbar, noch wird sie experimentell genau nachvollziehbar sein. Deshalb bleibt die Frage nach absolut verlässlichen Angaben, wie sich der CO-Hb-Gehalt im Blut unter bestimmten Bedingungen ändert, wohl immer offen.

Die beiden durchgeführten Versuche hatten den Zweck, eine Orientierung zu geben, welche Veränderungen überhaupt zu erwarten sind.

Wir hatten verschiedene CO-Hb-Konzentrationen gewählt, um die Verhältnisse, wie sie bei einer tödlichen (70 % CO-Hb) und einer schweren (40 % CO-Hb) CO-Vergiftung auftreten, untersuchen zu können; weiterhin interessierten uns die Veränderungen von Blut mit CO-Hb-Konzentrationen, wie sie als oberste Grenze bei starken Rauchern auftreten können (10 % CO-Hb) und von Blut mit physiologischen CO-Hb-Mengen.

Die vier Aufbewahrungsarten der Blutproben sollten die in der Praxis vorkommenden Verhältnisse widerspiegeln, allerdings in akzentuierter Form, damit mögliche Ver-

änderungen besonders stark hervortreten. Die anaerobe und aerobe Aufbewahrung sollten die Bedingungen nachahmen, die gegeben sind, wenn mit einer Venüle abgenommenes Blut bzw. im Reagenzglas aufbewahrtes Blut gelagert wird. Bei den warm aufbewahrten Proben wollten wir eine rasche Fäulnis induzieren, um überprüfen zu können, welche Veränderungen des CO-Hb-Gehalts bei ungünstiger Aufbewahrung möglich sind. Die Versuche sollten eine erste Orientierung über diese Problematik geben. Es ist anzunehmen, daß bei größeren Versuchsreihen noch stärkere Abweichungen des CO-Hb-Gehalts vom Frischblutwert aufgetreten wären.

## 2. Messung des Hb-Gehalts von faulem Blut

Sobald Blut für einige Zeit der aeroben oder anaeroben Fäulnis ausgesetzt worden ist, wird die photometrische Hb-Messung unzuverlässig. In Abb. 9 werden die Abweichungen der falsch zu hoch gemessenen Hb-Werte vom Hb-Sollwert dargestellt. Dabei fällt auf, daß Blutproben mit einem hohen CO-Hb-Gehalt weniger starke (die photometrische Hb-Messung beeinflussende) Veränderungen ihres Hb-Gehalts durchmachen als Proben mit niedrigem CO-Hb-Gehalt. Der Grund dafür ist wahrscheinlich, daß das CO-Hb ein stabileres Molekül darstellt als das O<sub>2</sub>-Hb und bei der Fäulnis entsprechend langsamer abgebaut wird.

Bemerkenswert ist auch noch, daß die Abweichung des photometrisch gemessenen Hb-Gehalts vom Frischblut-Hb bei

faulen Blutproben mit steigendem CO-Hb-Gehalt linear abnimmt (Abb. 10). Weitere Schlußfolgerungen können jedoch aus diesem Versuchsergebnis wegen der zu geringen Anzahl von Untersuchungen nicht gezogen werden.

Das Ausmaß der Hb-Änderung hängt sehr von der Art der Fäulnis ab. Die im I. Fäulnisversuch beobachtete Erhöhung des photometrischen Hb-Werts bei gefaulten Blutproben war nicht so ausgeprägt wie die im II. Fäulnisversuch.

Anhand der Versuchsergebnisse sollen nun einige Argumente angeführt werden, welche zeigen, daß mit dem atomabsorptionsspektralphotometrisch ermittelten Hb-Gehalt als Bezugsgröße zur Bestimmung des CO-Hb-Werts bei faulem Blut bessere Ergebnisse erzielt werden als mit dem photometrisch gemessenen Hb-Gehalt.

Betrachtet man in Abb. 11 die Einzelwerte aller "warm anaerob" und "warm aerob" gelagerter Blutproben, so liegen bei Zugrundelegung des über den Fe-Gehalt ermittelten Hb-Werts die CO-Hb-Werte von 10 Blutproben über dem Frischblutwert, die von 14 darunter. Zieht man den photometrischen Hb-Gehalt der Proben zur Berechnung heran, so liegen 2 CO-Hb-Werte über dem Ausgangswert, dagegen 22 darunter. Der Grund dafür liegt im photometrisch falsch zu hoch gemessenen Hb-Gehalt.

In Tabelle 5 wird dargestellt, wie sich der photometrisch

falsch zu hoch gemessene Hb-Gehalt auf die Berechnung der CO-Hb-Konzentration auswirkt. Im ungünstigsten Fall weicht der durch photometrische Hb-Messung errechnete CO-Hb-Gehalt um mehr als 30 % von dem mittels atomabsorptionsspektralphotometrischer Hb-Bestimmung ermittelten CO-Hb-Gehalt ab. Betrachtet man die Werte mit starker prozentualer Abweichung vom Frischblutwert des zweiten Versuchs, so fällt auf, daß bei Verwendung des photometrischen Hb-Werts zur CO-Hb-Berechnung 9 Proben um mehr als 10 % vom Frischblutwert abweichen, bei Verwendung des über die Fe-Messung ermittelten Hb-Werts sind es lediglich 3.

Die stärkste Abweichung vom Frischblutwert trat bei der Blutprobe 40 % CO-Hb, 29 Tage "aerob und warm" gelagert auf; sie war 40,9 % bei Zugrundelegung des photometrischen Hb-Werts, dagegen nur 23,4 % bei Verwendung des über die Fe-Messung ermittelten Hb-Werts als Bezugsgröße.

Die CO-Hb-Werte der gefaulten Blutproben liegen also besser um den Frischblutwert gestreut und weichen nicht so stark vom Ausgangswert ab, wenn man anstelle des photometrisch ermittelten Hb-Gehalts den über die atomabsorptionsspektralphotometrische Fe-Messung bestimmten Hb-Gehalt zur Berechnung des CO-Hb-Gehalts verwendet.

Bei allen Blutproben, die irgendwann der Fäulnis ausgesetzt waren (z.B. jedes Leichenblut, alle durch die Post

beförderte Blutproben und längere Zeit aufbewahrte Blutproben) sollte deshalb für die Berechnung des CO-Hb-Gehalts der über die Fe-Messung bestimmte Hb-Gehalt herangezogen werden.

### 3. Einfluß der Aufbewahrungsart auf die Änderung des CO-Hb-Gehalts von Blutproben

#### a) "Kühl und anaerob" und "kühl und aerob" aufbewahrte Proben

Bei diesen Proben zeigen beide Fäulnisversuche, daß noch sehr verlässliche CO-Hb-Werte gemessen werden können, nachdem die Proben bis zu 49 Tagen aufbewahrt worden sind. Abb. 11 zeigt, daß bei "kühl und anaerob" gelagerten Proben der mittels photometrisch gemessenem Hb-Wert ermittelte CO-Hb-Gehalt Werte mit geringerer Streuung um den Frischblutwert ergibt, als wenn man den über Fe-Messung bestimmten Hb-Gehalt als Bezugsgröße verwenden würde. Die Erklärung dafür ist, daß die photometrische Hb-Messung eine etwas geringere Streuung als die atomabsorptionsspektralphotometrische Fe-Messung hat.

Solange das Hb-Molekül noch keine die photometrische Hb-Bestimmung beeinflussenden Veränderungen durchgemacht hat (und unter günstigen Bedingungen scheint dies auch nach Wochen noch nicht der Fall zu sein, obwohl schon andere Veränderungen des Blutes wie z.B. Koagulation

oder geringgradige Hämolyse stattgefunden haben), kann man den photometrischen Hb-Wert noch als Bezugsgröße heranziehen.

Bei der Aufbewahrung von Leichenblut, die wohl immer "kühl und aerob" erfolgt, liegen die Verhältnisse jedoch anders als bei frischen Blutproben, da hier von vornherein mit Fäulnis gerechnet werden muß. Wegen der meist sehr massiven Keimbesiedlung der Blutprobe können die Fäulnisprozesse auch im Kühlen fortschreiten, wenn auch entsprechend langsamer. Die photometrische Hb-Bestimmung ist hier abzulehnen, vielmehr sollte die atomabsorptionsspektralphotometrische Hb-Bestimmung zur Ermittlung der Bezugsgröße für den gaschromatographisch gemessenen CO-Gehalt durchgeführt werden. Ein Rückschluß auf den CO-Hb-Gehalt des Blutes zum Todeszeitpunkt ist jedoch nur mit Einschränkungen möglich.

b) "Warm und anaerob" aufbewahrte Proben

Diese Proben zeigten auch nach einer Aufbewahrungszeit von 49 Tagen keine sehr große Abweichung ihres CO-Hb-Gehalts vom Ausgangswert. Wenn auch die über den photometrischen Hb-Gehalt der Blutproben ermittelten CO-Hb-Werte nur eine geringfügig höhere Abweichung vom Ausgangswert zeigten als die über die Fe-Bestimmung erhaltenen Hb-Werte (Abb. 11), so ist es doch bei "warm und anaerob" aufbewahrten Proben in jedem Fall

erforderlich, den atomabsorptionsspektrophotometrischen Hb-Gehalt zur Berechnung des CO-Hb-Gehalts heranzuziehen, da die Hb-Werte bei den beiden Methoden der Hb-Bestimmung doch ganz beträchtlich divergieren (Abb. 10).

c) "Warm und aerob" aufbewahrte Proben

Diese Proben zeigten erwartungsgemäß die stärksten Abweichungen vom Sollwert. In den Versuchen wurden allerdings sehr ungünstige Verhältnisse für die Aufbewahrung der Blutproben gewählt: Die Serumfläschchen waren nur ca. 1/6 mit Blut gefüllt, die Austauschfläche zwischen Blut und Luft war sehr groß. Auch wird unter normalen Verhältnissen eine Blutprobe nie so lange im Warmen aufbewahrt; es sollte bei den Versuchen festgestellt werden, welche Veränderungen des CO-Hb-Gehalts unter extremen Bedingungen zu erwarten sind.

Die Ergebnisse bei den Blutproben "0 %" CO-Hb und 40 % CO-Hb im zweiten Versuch zeigten, daß die Zu- oder Abnahme des CO-Hb-Gehalts bei den Proben von der Dauer der Fäulnis abhängig ist. Somit kann der Bereich des ursprünglichen CO-Hb-Gehalts enger eingegrenzt werden, wenn eine Blutprobe erst kürzere Zeit der Fäulnis ausgesetzt war. Im ersten Versuch war jedoch der Fall eingetreten, daß nach primärer Abnahme des CO-Hb-Gehalts

anschließend ein Anstieg erfolgte (Tab. 3).

Die Berechnung des CO-Hb-Gehalts solcher Proben sollte unbedingt mit Hilfe des Atomabsorptionsspektralphotometrisch bestimmten Hb-Gehalts erfolgen. Abschließend soll auch nochmals darauf hingewiesen werden, daß die Bestimmung des CO-Gehalts der gefaulten Blutproben unbedingt mit einer spezifischen Methode der CO-Messung, am besten, wie eingangs vorgeschlagen, mit einer gaschromatographischen CO-Bestimmung durchzuführen ist.

#### 4. Absolute Änderung des CO-Hb-Gehalts von Blutproben bei der Fäulnis; Eingrenzung eines Vertrauensbereichs

Um einen Vertrauensbereich für den Rückschluß auf den ursprünglichen CO-Hb-Gehalt einer jetzt gefaulten Blutprobe angeben zu können, interessierte, welche absoluten Änderungen des CO-Hb-Gehalts in % CO-Hb bei den "aerob und warm" gelagerten Blutproben aufgetreten sind.

Für die folgenden Ausführungen beziehen wir uns immer auf den über die Atomabsorptionsspektralphotometrische Hb-Messung berechneten CO-Hb-Gehalt.

Bei den Proben "0 %" CO-Hb und 10 % CO-Hb fanden wir als größte Abnahme 1,6 % CO-Hb, als größte Zunahme 2,4 % CO-Hb. Auch wenn man den Vertrauensbereich sehr großzügig absteckt, also z.B. das 5-fache der aufgetretenen

Veränderungen als mögliche Abweichungen ansetzt (- 8 % CO-Hb; + 12 % CO-Hb), so läßt sich bei unter den vorliegenden Bedingungen gefaulten Blutproben mit einem CO-Hb bis zu 20 % ein ursprünglicher CO-Hb-Gehalt von mehr als 60 % (was einer tödlichen CO-Vergiftung entspräche) mit Sicherheit ausschließen, es sei denn, die Blutprobe wäre nicht sorgfältig unter Luftabschluß aufbewahrt worden. Wenn man bei einer längere Zeit gefaulten Blutprobe einen CO-Hb-Gehalt in dem angegebenen Bereich von "0 %" bis 20 % CO-Hb feststellt, kann man jedoch nicht sicher sagen, ob die Blutprobe nun ursprünglich einen physiologischen CO-Hb-Gehalt oder eine CO-Hb-Konzentration bis ca. 40 % hatte.

Bei den Blutproben mit 40 % CO-Hb und 70 % CO-Hb fanden wir während der Fäulnis größere absolute Änderungen des CO-Hb-Gehalts: die größte Zunahme war 7,5 % CO-Hb, die größte Abnahme 10,6 % CO-Hb. Würde man dieselben Maßstäbe zur Abgrenzung des Vertrauensbereichs wie bei den Blutproben mit niedrigem CO-Hb-Gehalt anlegen (das wären dann - 53 % CO-Hb und + 37,5 % CO-Hb), so wäre eine Aussage über den Bereich, in dem der CO-Hb-Gehalt des frischen Blutes lag, nicht mehr möglich.

Räumt man jedoch ein, daß die gefundene Abnahme von 10,6 % CO-Hb schon einen recht extremen Wert darstellt, so läßt sich zumindest die Aussage machen, daß bei Wer-

ten von über 20 % CO-Hb bei der gefaulten Blutprobe auch bei der frischen Blutprobe ein über das physiologische Maß hinausgehender CO-Hb-Gehalt bestanden haben muß. Bei dieser Feststellung wurde jedoch auch die relativ geringe Änderung des CO-Hb-Gehalts während der Fäulnis bei den Blutproben mit niedrigem CO-Hb-Gehalt berücksichtigt.

Ein Beweis, daß im frischen Blut eine tödliche CO-Hb-Konzentration vorgelegen hat, ist anhand des CO-Hb-Gehalts der unter den vorliegenden Bedingungen gefaulten Blutproben nicht möglich. Nimmt man als Grenze des Vertrauensbereichs nur den zweifachen Wert der tatsächlich aufgetretenen Änderung des CO-Hb-Gehalts an (also - 21,2 % CO-Hb und + 15 % CO-Hb), so könnte ein Ausgangswert von 50 % CO-Hb während der Fäulnis des Blutes entweder auf 65 % CO-Hb (was einer tödlichen Konzentration entspräche) ansteigen, oder aber auf 28,8 % CO-Hb absinken.

##### 5. Ursachen der CO-Änderung während der Fäulnis

SJÖSTRAND (1951 , 1952) konnte experimentell nachweisen, daß beim Abbau des Hämoglobins in vitro wie in vivo CO gebildet wird. Nach STUPFEL (1970) wird bei der Sprengung des Tetrapyrrolrings des Hämoglobins in vitro ein Molekül CO frei.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß bei der Fäulnis von Blut in vitro wie "in vivo" derselbe Abbauweg des Hb vorkommt; daneben sind natürlich andere Arten des Abbaus, bei denen es nicht zur CO-Bildung kommt, denkbar.

Weiterhin ist es möglich, daß im Rahmen der bakteriellen Fäulnis von Blut eine CO-Bildung vorkommt, die nicht auf den eben geschilderten Abbau des Hb zurückzuführen ist.

Neben der CO-Entstehung im Blut kommt es jedoch auch zu einer - zumindest für in-vivo-Experimente bewiesenen - Oxidation von CO zu CO<sub>2</sub> im Blut: LUOMANMÄKI und COBURN (1969) konnten mit radioaktiv markiertem CO nachweisen, daß in vivo eine gewisse Menge des vorhandenen CO durch die Cytochromoxidase zu CO<sub>2</sub> oxidiert wird. Eine bakterielle Oxidation von CO zu CO<sub>2</sub> durch Aerobier kommt als weitere Möglichkeit des CO-Abbaus bei faulendem Blut in Betracht.

Das Ausmaß von CO-Produktion bzw. CO-Abbau hängt ganz wesentlich von der Umgebungstemperatur der Blutprobe und der Menge und Art der Keimbefiedlung ab.

Den eben angeführten Versuchsergebnissen und theoretischen Überlegungen entsprechend beobachteten wir bei den Fäulnisversuchen sowohl eine Zu- als auch eine Abnahme des CO-Hb-Gehalts der Blutproben.

Einen weiteren Gesichtspunkt lieferten uns noch die Ergebnisse der Gasphasenuntersuchungen. Wir fanden dort, daß bei den "kühl anaerob", "kühl aerob" und "warm anaerob" aufbewahrten Blutproben der CO-Gehalt der Gasphase im Serumfläschchen zwischen dem 1. und 15. Tag nach Blutabfüllung etwa gleich blieb, bei den "warm aerob" aufbewahrten Blutproben jedoch auf  $1/6$  des Ausgangswerts abnahm. Bei den "kühl aerob" und "warm aerob" gelagerten Blutproben fand während der ersten Stunden ein Austausch von CO gegen  $O_2$  am Hb statt, bis sich das Gleichgewicht entsprechend der Affinität von  $O_2$  und CO zu Hb eingestellt hatte. Durch aerobe Gärung wurde bei den "aerob und warm" aufbewahrten Blutproben der Sauerstoff allmählich verbraucht, sodaß das CO der Gasphase infolge des veränderten Gleichgewichts wieder ans Hb zurückkehrte. Man kann nun die Hypothese aufstellen, daß bei den "aerob und warm" aufbewahrten Blutproben wegen des  $O_2$ -Mangels eine Oxidation von CO zu  $CO_2$  nicht mehr möglich war, sodaß jetzt nur noch eine CO-Bildung stattfinden konnte. Recht deutlich zeigt sich dieser Wechsel von CO-Abnahme während der ersten (wahrscheinlich noch "aeroben") Phase der Fäulnis zur CO-Entstehung während der zweiten (jetzt sicherlich "anaeroben") Phase der Fäulnis bei den "warm und aerob" gelagerten Proben des I. Fäulnisversuchs, wo es nach einer anfänglichen Abnahme des CO-Hb-Gehalts am 15. Tag nach Probenansatz anschließend zu

einem CO-Hb-Anstieg über den Frischblutwert hinaus kam (Tab. 3).

Präzisere Aussagen über die Ursachen der CO-Änderung während der Fäulnis können nicht gemacht werden; wir können jedoch immerhin feststellen, daß es bei der "aeroben und warmen" Aufbewahrung von Blutproben

sowohl zu einem Anstieg  
als auch zu einem Abfall  
als auch zu einem Abfall mit anschließendem  
Anstieg des gemessenen CO-Hb-Gehalts kam.

#### 6. Ergebnisse von Fäulnisversuchen bei anderen Autoren

In Tabelle 8 sind die Ergebnisse, die andere Autoren bei Fäulnisversuchen erhielten, angegeben. Es wurden nur solche Untersuchungen berücksichtigt, bei denen von der Methode her ein Mindestmaß an Richtigkeit auch bei der Messung von gefaulten Blutproben gewährleistet war.

Bei den gaschromatographischen Untersuchungsmethoden verwendeten die Autoren entweder die CO-Bindungskapazität des Blutes nach  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ -Zugabe oder den photmetrisch bestimmten Hb-Gehalt als Bezugsgröße; beide Methoden wurden schon in der Einleitung der vorliegenden Arbeit als nicht zuverlässig beschrieben; auch die Methode der CO-Hb-Bestimmung nach WOLFF führt bei kontaminiertem Blut (welches man zumindest bei den Untersuchungen von

MARKIEWITZ (1967) annehmen muß) zu falschen Werten (BLACK-MORE 1970).

Bei den Versuchen der verschiedenen Autoren zeigte sich, daß teilweise größere Zu- bzw. Abnahmen des CO-Hb-Gehalts vorkamen als bei unseren Versuchen.

Tabelle 8: Ergebnisse von Fäulnisversuchen bei verschiedenen Autoren

| Autor            | Art und Aufbewahrung der Blutprobe                                                                                                                   | Unters.-Methode                           | Ergebnis                                                                                           |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AINSWORTH et al. | Blut 9 Tage bei 37,5°C aufbewahrt                                                                                                                    | gaschr. Hb                                | keine wesentliche Änderung des CO-Hb-Gehalts                                                       |
| DOMINGUEZ et al. | Hunde 4 Tage lang in Seewasser bei 29,5°C versenkt, dann<br>a) Proben sofort untersucht<br>b) Proben n. mehreren Gefrier- u. Auftauzyklen untersucht | gaschr. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ | a) keine wesentliche Änderung<br>b) geringe Erhöhung des CO-Hb-Gehalts                             |
| GRAMER           | Frischblut 1-3 Tage während Postversand, dann einige Tage Kühlschrank, dann Zimmertemperatur                                                         | WOLFF                                     | im Kühlschrank Abfall um 10 % CO-Hb, dann Anstieg um maximal 20 % CO-Hb                            |
| HESEL u. MODGLIN | a) Frischblut, 8 Gefrier- und Auftauzyklen<br>b) Blut einer Leiche mit CO-Intoxikation 42 Tage Zimmertemperatur                                      | gaschr. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ | a) Abnahme einer Probe von 27,6 % auf 20 % CO-Hb<br>b) Abnahme einer Probe von 82 % auf 64 % Co-Hb |
| MARKIEWITZ       | Leichenblut<br>a) im 2/3 gefüllten Reagenzglas<br>b) paraffinüberschichtet im Reagenzglas                                                            | WOLFF                                     | a) Anstieg um max. 8 % CO-Hb innerhalb 4 Tagen, dann Abfall<br>b) kaum Veränderung des CO-Hb       |

Legende zu den Untersuchungsmethoden:

gaschr. : Gaschromatographisch CO-Bestimmung  
Hb : Photometrische Cyan-Met-Hb-Bestimmung  
 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  : Bestimmung der CO-Bindungskapazität einer Blutprobe bei vorheriger Zugabe von Natriumdithionit  
WOLFF : Bestimmung des CO-Hb-Gehalts nach der WOLFF'schen Methode

7. Übertragung der Versuchsergebnisse auf die Verhältnisse bei Leichen

Die Frage, in welchem Ausmaß sich ein physiologischer oder ein pathologischer CO-Hb-Gehalt des Blutes zum Todeszeitpunkt während der Fäulnis einer Leiche ändert, ist anhand der durchgeführten Versuche nicht sicher zu beantworten. Es spielen hier zu viele andere Faktoren eine Rolle, die im in-vitro-Experiment nicht nachvollziehbar sind. Es ist aber sehr wahrscheinlich, daß sowohl eine Erhöhung als auch eine Erniedrigung des CO-Hb-Gehalts bei den Fäulnisvorgängen auftreten kann und daß die Veränderungen um so größer sind, je länger die Fäulnis bestand.

Deshalb sollte die Schätzung des CO-Hb-Gehalts von Blutproben zum Todeseintritt sehr vorsichtig erfolgen, wenn man zur Untersuchung nur stärker gefaultes Leichenblut zur Verfügung hat. In jedem Falle aber dürfte die Hb-Bestimmung über den Fe-Gehalt der Blutprobe zu CO-Hb-Werten führen, die denjenigen zum Todeszeitpunkt eher entsprechen, als wenn man eine Hb-Bestimmung als Bezugsgröße zur Berechnung des CO-Hb-Gehalts verwenden würde.

## V. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit ist das Resultat der Bemühungen, die von LAUTENBACH et al. empfohlene Methode der gas-chromatographischen CO-Hb-Bestimmung bei frischem Blut für die CO-Hb-Messung bei gefaulten Blutproben anwendbar zu machen.

Dazu mußte die photometrische Cyan-Met-Hb-Messung, welche bei faulen Blutproben wegen der auftretenden Hb-Abbauprodukte nicht anwendbar ist, durch eine Methode ersetzt werden, mit der man auch bei veränderten Blutproben den ursprünglichen Hb-Gehalt bestimmen bzw. auf ihn rückschließen kann. Dies ist mit Hilfe einer Eisen-Messung von Vollblut möglich, da das Fe im Blut in einem konstanten stöchiometrischen Verhältnis zu Hb steht und bei der Fäulnis von Blut keinerlei Veränderungen durchmacht.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurden die gas-chromatographische Methode der CO-Bestimmung nach LAUTENBACH et al. und die photometrische Cyan-Met-Hb-Methode beschrieben.

In eigenen Untersuchungen wurde die photometrische Cyan-Met-Hb-Methode für die Messung von frischen, CO-Hb-haltigen Blutproben überprüft. Es wurde herausgefunden,

daß die Umwandlung von CO-Hb zu Cyan-Met-Hb langsamer abläuft als die Umsetzung von  $O_2$ -Hb zu Cyan-Met-Hb; bei einer CO-gesättigten Blutprobe ist die Umwandlung zu Cyan-Met-Hb erst nach drei Stunden abgeschlossen.

Weiterhin wurde festgestellt, daß es beim Sättigen von Blut mit CO im Kolben nach WEHRLI durch Wasserentzug zu einer signifikanten Erhöhung des Hb-Gehaltes kommt.

Für die Hb-Messung von faulen Blutproben wurde eine atomabsorptionsspektralphotometrische Eisen-Bestimmung im Vollblut entwickelt. Der Probenansatz ist sehr einfach durchzuführen: In ein Reagenzglas pipettiert man zu 5 ml 0,5 %iger Triton-X-100-Lösung 0,1 ml Blut.

Wenn die Hämolyse des Blutes erfolgt ist, können die Proben vermessen werden. Die Eichung des Atomabsorptionsspektralphotometers wird mit einem Standard von  $10 \mu\text{g Fe} / 1 \text{ ml H}_2\text{O}$  vorgenommen. Das Fe-Signal des Standards kann man so abgleichen, daß beim Messen der Proben deren Hb-Gehalt direkt in g/100 ml angezeigt wird. Bei der hier beschriebenen atomabsorptionsspektralphotometrischen Fe-Bestimmung liegen Blutproben mit hohem und niedrigem Hb-Gehalt im linearen Meßbereich des Geräts, sodaß keine Eichkurven notwendig sind.

Die Methode der atomabsorptionsspektralphotometrischen Hb-Bestimmung wurde nun mit der photometrischen Cyan-Met-Hb-Bestimmung verglichen. Es zeigte sich, daß die

atomabsorptionsspektralphotometrisch gefundenen Hb-Werte durchschnittlich 4,35 % niedriger als die mit der photometrischen Hb-Bestimmung gewonnenen Werte lagen. Ohne jedoch die beiden Methoden mit einer definitiven Methode der Hb-Bestimmung vergleichen zu können (eine solche steht bislang noch nicht zur Verfügung), wurde die atomabsorptionsspektralphotometrische Hb-Messung der photometrischen Hb-Bestimmung angepaßt, um eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Diese Anpassung war durch eine andere Abgleichung des Fe-Standard-Signals des Atomabsorptionsspektralphotometers beim Eichen des Geräts möglich.

Die Präzision der atomabsorptionsspektralphotometrischen Hb-Bestimmung, ausgedrückt als Streuung einer Serie von 50 Probenansätzen derselben Blutprobe, war  $V = 2,38 \%$ .

Mit der CO-Bestimmung nach LAUTENBACH et al. und der Methode der Hb-Bestimmung von faulen Blutproben wurden in der vorliegenden Arbeit Messungen an unter verschiedenartigen Bedingungen (Kühlschrank- und Zimmertemperatur, in Helium- und Luftatmosphäre) in Serumfläschchen aufbewahrten, CO-Hb-haltigen Blutproben vorgenommen, um Änderungen des CO-Hb-Gehalts von Blutproben während der Fäulnis zu erfassen.

Es konnte festgestellt werden, daß die photometrische

Hb-Messung bei gefaulten Blutproben falsch zu hohe Werte ergab, während bei der Hb-Bestimmung mittels Fe-Messung die Werte über die gesamte Fäulnisperiode konstant blieben. Aus den Ergebnissen darf gefolgert werden, daß eine photometrische Hb-Messung bei gefaulten Blutproben abzulehnen ist; vielmehr sollte die Hb-Bestimmung durch atomabsorptionsspektralphotometrische Fe-Messung erfolgen. Dann wurde an verschiedenen Beispielen gezeigt, daß durch den photometrisch falsch zu hoch gemessenen Hb-Gehalt gefaulter Blutproben bei der Berechnung des CO-Hb-Gehalts falsch zu niedrige Werte ermittelt wurden.

Es wurde herausgefunden, daß im Kühlschrank aufbewahrte Frischblutproben eine nur recht geringe Änderung ihres CO-Hb-Gehalts durchmachen. Bei Blutproben, die in Serumfläschchen, welche als Gasphase über dem Blut Luft enthielten, bis zu 49 Tagen aufbewahrt wurden, kam es teilweise zu erheblichen Abweichungen des CO-Hb-Gehalts vom Ausgangswert. Die größte Zunahme betrug 7,5 % CO-Hb, die größte Abnahme 10,3 % CO-Hb. Aufgrund dieser Ergebnisse kann für über längere Zeit im Warmen aufbewahrte Frischblutproben lediglich folgender Anhaltspunkt für die Rückbestimmung des CO-Hb-Gehalts der Blutprobe vor Beginn der Fäulnis gegeben werden: Gefaulte Blutproben mit einem CO-Hb-Gehalt bis 20 % hatten mit großer Wahr-

scheinlichkeit vor Beginn der Fäulnis einen CO-Hb-Gehalt, der für eine tödliche CO-Vergiftung nicht ausgereicht hätte. Bei gefaulten Blutproben mit einem CO-Hb-Gehalt von über 20 % kann nicht festgestellt werden, ob im frischen Blut ein CO-Hb-Gehalt vorlag, der einer tödlichen oder nur einer leichten CO-Vergiftung entsprach. Der Beweis einer tödlichen CO-Hb-Konzentration ist bei längere Zeit gefaultem Blut nicht mehr möglich.

Die Ursachen der CO-Änderung sind zum einen in der CO-Entstehung beim Abbau des Hb und in der Oxydation des CO zu CO<sub>2</sub> durch Fermente zu suchen, zum anderen hat die bakterielle Fäulnis einen großen, nur schwer abschätzbaren Einfluß auf CO-Entstehung bzw. CO-Abnahme.

Bei den Fäulnisexperimenten konnte

sowohl eine Zunahme

als auch eine Abnahme

als auch zunächst eine Abnahme und anschließend eine Zunahme des CO-Hb-Gehalts der Blutproben

festgestellt werden.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

AINSWORTH, C.A., E.L. SCHLOEGEL, T.J. DOMANSKI und  
L.R. GOLDBAUM:

A gas chromatographic procedure for the determination of carboxyhemoglobin in postmortem samples.

J. Forens. Sci. 12, 529 (1967)

AYRES, S.M., A. CRISCITIELLO und S. GIANNELLI Jr.:  
Determination of blood carbon monoxide content by  
gas chromatography.

J. Appl. Physiol. 21, 1368 (1966)

BREITENECKER, L. und W. HOLCZABEK:

Kohlenoxidvergiftung

in: PONSOLD, A.

Lehrbuch der Gerichtlichen Medizin, 3. Aufl.

Thieme, Stuttgart 1967

BLACKMORE, D.J.

The determination of carbon monoxide in blood  
and tissue.

Analyst 95, 439 (1970)

CARLSON, H.C.:

Gas chromatographic analysis of blood for carbon  
monoxide.

Res. Vet. Sci. 5, 186 (1964)

COLLISON, H.A., F.L. RODKEY und J.D. O'NEAL:

Determination of carbon monoxide in blood by  
gas chromatography.

Clin. Chem. 14, 162 (1968)

CURRY, A.S.:

Recent developments in the use of gas chromatography in forensic toxicology.

Gas Chromatog. Biol. Med. Ciba Found. Symp. S. 132  
London 1969

DAHMS, T.E. und S. M. HORVATH:

Rapid, accurate technique for determination of carbon monoxide in blood.

Clin. Chem. 20, 533 (1974)

DOMINGUEZ, A.M., H.E. CHRISTENSEN, L.R. GOLDBAUM  
und V.A. STEMBRIDGE:

A sensitive procedure for determining carbon monoxide in blood or tissue utilizing gas-solid chromatography.

Toxicol. Appl. Pharmacol. 1, 135 (1959)

DOMINGUEZ, A.M., J.R. HALSTAED und T.J. DOMANSKI:

The effect of postmortem changes on carboxyhemoglobin results.

J. Forens. Sci. 9, 330 (1964)

DOMINGUEZ, A.M., J.R. HALSTEAD und T.J. DOMANSKI:

Determination of carboxyhemoglobin in decomposed bodies.

Aerospace Medical Division, 6570 Aerospace Medical  
Research Laboratories, Wright-Patterson AFB, Ohio.  
Rpt. No. AMRL-TDR-63-69

DUBOWSKI, K.M. und J.L. LUKE:

Measurement of carboxyhemoglobin and carbon monoxide in blood.

Ann. Clin. Lab. Sci. 3, 53 (1973)

EKBOHM-LINDHOLM, K.:

Effect of heating of blood on the quantitative determination of carbon monoxide haemoglobin.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 63, 114 (1968)

GRAMER, L.:

Vergleichende Untersuchungen über CO-Bestimmung im Blut.

Msch. Unfallheilk. 64, 121 (1961)

GRAMER, L.:

Über die Problematik der Methoden zur Bestimmung von Kohlenoxyd im Blut (vergleichende Untersuchungen).

Zbl. Arbeitsmed. 11, 53 (1961)

GRIEDER, K. und H. BUSER:

Gaschromatographische Bestimmung von Kohlenmonoxid in der Ausatemungsluft und im Blut.

Beitr. Tabakforsch. 6, 36 (1971)

HESSEL, D.W. und F.R. MODGLIN:

The determination of carbon monoxide in blood by gas-solid chromatography.

J. Forens. Sci. 12, 123 (1967)

HEYNDRICKX, A., C. SCHEIRIS, A. VERCruysse und E. OKKERSE:

Gas chromatographic determination of carbon monoxide in blood and the hyperbaric oxygen treatment in carbon monoxide poisoning cases.

J. Pharm. Belg. 25, 247 (1970)

HOLZER, F.J.:

Zur Beurteilung von Kohlenoxydvergiftungen.

Beitr. z. gerichtl. Med. 22, 144 (1962)

IFFLAND, R. und G. STICHT:

Gaschromatographisches Verfahren zur Bestimmung  
des Kohlenmonoxidgehaltes im Blut.

Arch. Toxikol. 29, 325 (1972)

KAKUTANI, S., H. YAMANO, K. FUKUDA und F. MATSUMOTO:

Gaschromatographic studies on CO-hemoglobin (IV)  
On comparison between gaschromatographic and spectro-  
photometric procedure for estimating concentration  
of carbon monoxide-hemoglobin in blood.

Kagaku Keisatsu Kenkyusko Hokoku 21, 37 (1968)

KLIMISCH, H.-J., K. MEISSNER und H. WERNICKE:

Quantitative determination of carbon monoxide in  
blood by gaschromatography.

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 12, 535 (1974)

LAUTENBACH, L., J. LÖTTERLE und H.W. SCHÜTZ:

Gaschromatographische Methode zur quantitativen  
Bestimmung von CO-Hämoglobin.

In Vorbereitung

LUOMANMÄKI, K. und R.F. COBURN:

Effects of metabolism and distribution of carbon  
monoxide on blood and body stores.

Amer. J. Physiol. 217, 354 (1969)

MAEHLY, A.C.:

Analyse von Kohlenoxydvergiftungen.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 52, 369 (1962)

MARKIEWICZ, J.:

Investigations on endogenous carboxyhaemoglobin.

J. Forens. Med. 14, 16 (1967)

MC CREDIE, R.M. und A.D. JOSÉ:

Analysis of blood carbon monoxide and oxygen  
by gas chromatography.

J. Appl. Physiol. 22, 863 (1967)

MÜNDT, W., R. RUPPEL, V. KASSEBART, J. ANGERER  
und D. SZADKOWSKI:

Ein gaschromatographisches Verfahren für epidemio-  
logische Untersuchungen auf Kohlenmonoxid in  
Luft und Blut.

Inn. Med. 2, 145 (1974)

NAEVE, W. und W. JANSSEN:

Kohlenmonoxidvergiftung in einer Sauna mit  
Propangasbeheizung.

Arch. Kriminol. 148, 61 (1971)

OSTERHAUS, E.:

Zwei zunächst ungeklärte Todesfälle infolge  
Kohlenmonoxidvergiftung.

Arch. Kriminol. 151, 159 (1973)

PATSCHIEDER, H.:

Eigenartige Vergiftung durch Kohlenoxyd.

Arch. Kriminol. 137, 139 (1966)

PURVES, M.J.:

Measurement of the gas content of blood samples  
using gas chromatography.

in: PORTER, R. (Hrsg)

Gas Chromatog. Biol. Med. Ciba Found. Symp. S. 113  
London 1969

RODKEY, F.L.:

Kinetic aspects of cyanmethemoglobin formation from carboxyhemoglobin.

Clin. Chem. 13, 2 (1967)

RODKEY, F.L.:

Discussion: Carbon monoxide estimation in gases and blood by gas chromatography.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 174, 261 (1970)

SCHWERD, W.:

Kohlenoxydbestimmung im Leichenblut.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 44, 249 (1955)

SCHWERD, W.:

Der rote Blutfarbstoff und seine wichtigsten Derivate.

Schmidt-Römhild, Lübeck 1962

SCHWERD, W.:

Kurzgefaßtes Lehrbuch der Rechtsmedizin.

Deutscher Ärzte Verlag, Köln 1975

SCHWERD, W. und G. SCHWEMMER:

Der Einfluß der Alterung von Blutproben auf das Ergebnis der spektrophotometrischen Kohlenoxydbestimmung.

Arch. Toxikol. 16, 393 (1957)

SJÖSTRAND, T.:

The in vitro formation of carbon monoxide in blood.

Acta Physiol. Scand. 24, 314 (1951)

SJÖSTRAND, T.:

The formation of carbon monoxide by in vitro decomposition of haemoglobin in bile pigments.

Acta Physiol. Scand. 26, 328 (1952)

SJÖSTRAND, T.:

The formation of carbon monoxide by the decomposition of haemoglobin in vivo.

Acta Physiol. Scand. 26, 338 (1952)

SOTNIKOV, E.E.:

"Die Bestimmung des Kohlenmonoxids im Blut mittels einer gaschromatographischen Methode". (Original in Russisch)

Gig. Sanit. 36, 61 (1971)

SPANN, W.:

Tod durch Kohlenmonoxydvergiftung bei Benutzung eines Propangasgerätes.

Münch. med. Wschr. 99, 21 (1957)

STUPFEL, M.:

Le contenu physiologique en oxyde de carbone de l'organisme.

Presse Méd. 78, 2065 (1960)

SUNDSTRÖM, G.:

Blood carboxyhemoglobin: results with conventional standards compared with those with a submicroliter reference of gaseous CO.

Clin. Chem. 18, 188 (1972)

TAYLOR, J.D. und J.D.M. MILLER:

A source of error in the cyanmethemoglobin method of determination of hemoglobin concentration in blood containing carbon monoxide.

Amer. J. Clin. Path. 43, 265 (1965)

VAN ASSENDELFT, O.W., W.G. ZIJLSTRA, A. BUURSMAN,  
E.J. VAN KAMPEN und W. HOEK:

The use of atomic absorption spectrophotometry  
for the measurement of haemoglobin-iron, with  
special reference to the determination of epsilon  
540 H<sub>2</sub>CN.

Clin. Chim. Acta 22, 281 (1968)

WELLER, H.:

Das Hämoglobin.

in: MÜLLER, F. und O. SEIFERT

Taschenbuch der medizinisch-klinischen Diagnostik.  
Bergmann, München 1975

ZETTNER, A. und A.H. MENSCH:

The use of atomic absorption spectroscopy in hemo-  
globinometry.

Amer. J. Clin. Path. 48, 225 (1967)

Herrn Professor Dr. H.-B. Wuermeling bin ich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes an seinem Institut, die Durchsicht der Arbeit sowie für die Übernahme des Referates außerordentlich zu Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr. L. Lautenbach danke ich für die Überlassung des Themas und seine tatkräftige und stets gerne gewährte Unterstützung bei der Durchführung der experimentellen Arbeiten.

### Lebenslauf

Am 25.7.1949 wurde ich als Sohn des Dipl.-Ingenieurs Erwin Lötterle und seiner Ehefrau Dr. med. Ingeborg, geb. Wenninger, in Frankfurt am Main geboren.

Von September 1955 bis Juli 1959 besuchte ich die Friedrich-Rückert-Volksschule und anschließend bis Juni 1969 das Ohm-Gymnasium in Erlangen. Das Abitur bestand ich am 13.6.1969.

Im Wintersemester 1969/70 begann ich mit dem Studium der Psychologie, im Sommersemester 1970 mit dem Studium der Medizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. Im Sommersemester 1971 brach ich das Psychologiestudium ab. Das Physikum bestand ich im Sommersemester 1972, das medizinische Staatsexamen am 15.12.1975.

Vom 1.4.1976 bis zum 31.7.1976 arbeitete ich als Medizinalassistent am Institut für Rechtsmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg. Vom 1.10.1976 bis zum 31.1.1977 leistete ich meine chirurgische Medizinalassistentenzeit am Städtischen Krankenhaus in Forchheim ab. Seit dem 1.5.1977 arbeite ich als Medizinalassistent in der Inneren Abteilung der Städtischen Krankenanstalten Bayreuth.





